

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÖĞÜS HASTALIKLARININ TEDAVİSİNDE
NANOBİYOTEKNOLOJİK BİR YAKLAŞIM:
POLİMERİK NANO-MALZEMELERİN İNHALER
YOLLA KULLANIMININ ARAŞTIRILMASI**

Esra FEYZİOĞLU DEMİR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sinan AKGÖL

Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Biyoteknoloji Doktora Programı

İZMİR

2019



Esra FEYZİOĞLU DEMİR tarafından Doktora tezi olarak sunulan “Göğüs Hastalıklarının Tedavisinde Nanobiyoteknolojik Bir Yaklaşım: Polimerik Nano-Malzemelerin İnhaler Yolla Kullanımının Araştırılması” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 17.06.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

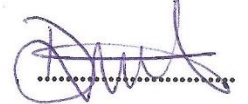
Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :Prof. Dr. Sinan AKGÖL



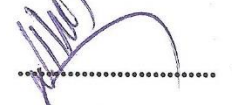
Raportör Üye : Prof.Dr. Dilek ODACI DEMİRKOL



Üye : Prof. Dr. N.Ülkü KARABAY YAVAŞOĞLU



Üye : Prof. Dr. Münire Nalan TÜZMEN



Üye :Doç. Dr. Nilay BERELİ





EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Göğüs Hastalıklarının Tedavisinde Nanobiyoteknolojik Bir Yaklaşım: Polimerik Nano-Malzemelerin İnhaler Yolla Kullanımının Araştırılması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

17/06/2019

Esra FEYZİOĞLU DEMİR



ÖZET**GÖĞÜS HASTALIKLARININ TEDAVİSİNDE
NANOBIYOTEKNOLOJİK BİR YAKLAŞIM: POLİMERİK NANO-
MALZEMELERİN İNHALER YOLLA KULLANIMININ
ARAŞTIRILMASI**

FEYZİOĞLU DEMİR, Esra

Doktora Tezi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sinan AKGÖL

Haziran 2019, 169 sayfa

Göğüs hastalıklarında astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) en sık rastlanan ve görülme oranı giderek artan hastalıklardır. Bu hastalıklar hava yolunu tıkanmasıyla karakterize edilir. Astımda tıkanıklık değişken ve tersinir, KOA'da ileri ve büyük ölçüde geri dönüşümsüzdür. İki hastalıkta da solunum yolunda çok farklı inflamasyon proteinlerin ekspresyonlarındaki artıştan dolayı kronik inflamasyon vardır. Astım ve KOA gibi hastalıkların tedavisinde lokal ve hızlı etkili olması nedeniyle inhalasyon yoluyla ilaç kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir. Bu amaçla, astım ve KOA tedavisinde kullanılan salmeterol ksinafoat (SAM) ve flutikazon propiyonat (FLU) ilaçları içeren çift moleküler baskılanmış nanopartiküller hazırlanarak, ilaç salımında kullanılabilirliğinin araştırılmıştır.

Bu kapsamda, salmeterol ksinafoat (SAM) ve flutikazon propiyonat (FLU) ilaçların salımı için SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküller sürfaktantsız emülsiyon polimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Sentez sonrası çift baskılanmış nanopartiküllerin karakterizasyonu için SEM, FTIR, SPM, Zeta boyut analizi yapıldı, spesifik yüzey alanları hesaplandı. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküller SAM ve FLU adsorpsiyon koşullarını optimize etmek için SAM ve FLU adsorpsiyona zamanın etkisi, başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi ve ortam sıcaklığının etkisi araştırıldı. Ortalama 231,8 nm boyutlarında, 1055,00 m²/g yüzey alanına sahip MIP

VIII

nanopartiküllerin 1500 ppm konsantrasyonunda adsorpsiyon değerlerinin dengeye geldiği ve SAM'ın maksimum adsorpsiyon değeri 537,64 mg/g olarak; FLU'nun ise 393,32 mg/g olarak bulundu. Adsorpsiyon kinetikleri, izotermi ve termodinamik parametreleri hesaplanan MIP nanopartiküllerin seçicilik denemesi için benzer kimyasal yapısına sahip budesonid (BS) ve formeterol fumarat (FF) ilaçları kullanıldı. MIP nanopartiküllerin SAM'ın BS molekülüne göre 9,78 kat, FF molekülüne göre 1,77 kat seçici olduğu; FLU'nun ise BS göre 2,19 kat, FF molekülüne göre 0,40 kat seçici olduğu belirlendi. İn vitro ilaç salım denemelerinde ise ilaç salım koşullarını optimize etmek için yüklenen başlangıç ilaç konsantrasyonunun etkisi, ortam pH'nın etkisi ve ortam sıcaklığının etkisi araştırıldı ve 7 gün boyunca salım denemeleri yapıldı. Simüle akciğer ortamında da SAM ve FLU salım denemeleri yapıldı. Yedi günün sonunda simüle akciğer ortamına salınan SAM miktarı 4,96 mg/g iken, salınan FLU miktarı 6,15 mg/g olarak belirlendi. Simüle akciğer ortamında SAM ve FLU salımının kinetiği hesaplandı. SAM ve FLU'nun salımı Higuchi salım modeline uyduğu ve FLU'nun Fick difüzyon kinetiğine uyan salım davranışı, SAM ise Fick difüzyon modeline uymayan (anorma taşıma) salım davranışı sergilediği belirlendi. Son olarak, in vitro sitotoksisite testi yapıldı ve MTT testi için 5 farklı MIP nanopartikül konsantrasyonları HEK-293 hücre hattına uygulandı. Elde edilen sonuçlara göre, 10 µg/mL MIP nanopartikül diğer konsantrasyonlara kıyasla daha az hücre canlılığını baskıladığı belirlendi.

Anahtar Sözcükler: Kontrollü İlaç Salımı, Moleküler Baskılanmış Polimerler, Çift moleküler baskılama, Nanopartikül, Salmeterol ksinafoat, Flutikazon propiyonat, Astım, KOAH

ABSTRACT**NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT
OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING
POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER**

FEYZİOĞLU DEMİR, Esra

PhD Thesis, Biotechnology Department

Supervisor: Prof. Dr. Sinan AKGÖL

June 2019, 169 page

Asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are the most common and rate of incidence increasing diseases of the chest diseases. These diseases are characterized by obstruction of the airway. While obstruction of the airway in asthma is variable and reversible, obstruction of the airway in COPD is advanced and largely irreversible. In both diseases, there is chronic inflammation due to the increased expression of very different inflammation proteins in the respiratory tract. Drug use by inhalation is often preferred because of its local and rapid efficacy in the treatment of asthma and COPD. For this purpose, double molecularly imprinted nanoparticles containing salmeterol xinafoate (SAM) and fluticasone propionate (FLU) drugs used in the treatment of asthma and COPD were prepared and their usability in drug release was investigated.

In this context, SAM and FLU imprinted p(HEMA-MAAL-MAH) nanoparticles were synthesized by surfactant-free emulsion polymerization method for SAM and FLU release. After the synthesis, SEM, FTIR, SPM, Zeta size analysis were performed and specific surface areas were calculated for characterization of double imprinted nanoparticles. The adsorption conditions of SAM and FLU on the double imprinted nanoparticles were optimized. The adsorption values of MIP nanoparticles having a surface area of 1055,00 m²/g at a mean size of 231.8 nm were in equilibrium at 1500 ppm concentration and the maximum adsorption value

of SAM and FLU were found as 537,64 mg/g and 393,32 mg/g respectively. The adsorption kinetics, isotherms and thermodynamic parameters of MIP nanoparticles were also calculated. Budesonide (BS) and formeterol fumarate (FF) drugs were used in the selectivity experiments for their similar chemical structure with SAM and FLU drugs. According to selectivity experiments, it was determined that MIP nanoparticles were 9.78 times selective to the SAM according to BS and 1.77 times selective to the SAM according FF. Also, It was determined that MIP nanoparticles were 2.19 times selective to the FLU according to BS and 0.40 times selective to the SAM according FF molecule. In vitro drug release experiments, the effect of loading initial drug concentration, the effect of pH and temperature was investigated in order to optimize drug release conditions and release experiments were conducted for 7 days. SAM and FLU release experiments were also performed in the simulated lung fluid. At the end of seven days, the amount of released SAM was 4,96 mg/g, while the amount of released FLU was 6,15 mg/g in the simulated lung fluid (SLF). The kinetics of SAM and FLU release were calculated in the SLF. The release of SAM and FLU was determined to be compatible with the Higuchi release model. Also, the release behavior of FLU was found to be suitable with Fickian diffusion kinetics, whereas the release behavior of SAM was found to be not suitable with Fickian diffusion kinetics (anomalous transport). Finally, in vitro cytotoxicity testing was performed and 5 different MIP nanoparticle concentrations were applied to the HEK-293 cell line for MTT assay. According to the results, 10 μ g/mL MIP nanoparticle suppressed less cell viability compared to other concentrations.

Keywords: Controlled Drug Release, Molecularly Imprinted Polymers, Double Imprinted, Nanoparticle, Salmeterol xinafoate, Fluticasone propionate, Asthma, COPD

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında, astım, KOAH gibi gelişmiş ülkelerde çevresel faktörlerin etkisiyle giderek artan göğüs hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere nano-boyutlu polimerik nanopartiküllerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Literatürdeki çalışmalardan farklı olarak, astım gibi hastalıkların tedavisinde birlikte kullanılan iki etken maddeyi taşıyabilmesi için iki farklı fonksiyonel monomerden oluşan çift moleküler baskılanmış nanopartiküller sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve etken maddelerin in vitro ortamda salımı araştırılmıştır.

Bu tez çalışması, Ege Üniversitesi Aliye Üster Vakfı tarafından doktora tez projesi olarak desteklenmiştir.

Ayrıca, doktora öğrenciliğim boyunca ‘ TÜBİTAK -2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı, 2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı’ desteğini bana sağlayan Tübitak-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı’ na teşekkür ederim.

İZMİR

17/ 06 /2019

Esra FEYZİOĞLU DEMİR



İÇİNDEKİLER**Sayfa**

ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
ÖNSÖZ	XI
İÇİNDEKİLER	XIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIX
ÇİZELGELER DİZİNİ	XXV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XXVI
1 GİRİŞ	1
2 GENEL BİLGİ	3
2.1 Solunum Sistemleri	3
2.1.1 Alveoller	5
2.1.2 Solunum sisteminde partiküllerin birikim mekanizmaları	7
2.2 Solunum Sistemi Hastalıkları	10
2.2.1 Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)	10
2.2.2 Astım	12
2.2.3 Astım ilaçların uygulama yolları	23
2.3 Kontrollü Salım Sistemleri	31

İÇİNDEKİLER (Devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.1 Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması.....	31
2.4 Pulmoner İlaç Salımı ve Kullanılan İlaç Taşıyıcı Sistemler	35
2.4.1 Katı lipit nanopartiküller.....	36
2.4.2 Lipozomlar	37
2.4.3 Miseller	38
2.4.4 Dentrimerler	40
2.4.5 PEGilasyon.....	40
2.4.6 Polimerik nanopartiküller	41
2.5 Moleküler Baskılama Teknolojisi	43
2.5.1 Moleküler baskılama teknolojisinin kullanım alanları.....	45
2.5.2 MIP için özel stratejiler	49
3 MATERYAL VE METOT.....	54
3.1 Materyal.....	54
3.2 Cihaz ve Sistemler.....	54
3.3 Moleküler Baskılanmış Nanopartiküllerin Sentezi	54
3.3.1 Fonksiyonel monomer MAAL'ın sentezi ve karakterizasyonu.....	55
3.3.2 Fonksiyonel monomer MAH'ın sentezi ve karakterizasyonu.....	55

İÇİNDEKİLER (Devam)

Sayfa

3.3.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezi ...	56
3.4 SAM ve FLU Baskılanmış p(HME-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	57
3.4.1 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR (fourier transform infrared spektrofotometre) ölçümleri	58
3.4.2 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM (taramalı elektron mikroskobu) fotoğrafları	58
3.4.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM (taramalı uç mikroskobu) analizi	58
3.4.4 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin zeta boyut analizi.....	59
3.4.5 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini	59
3.4.6 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin spesifik yüzey alan hesabı	59
3.5 SAM ve FLU'ın Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi	60
3.6 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllere SAM ve FLU Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu	60
3.6.1 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında zamanın etkisi.....	61

İÇİNDEKİLER (Devam)

Sayfa

3.6.2 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında başlangınç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi	63
3.6.3 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında sıcaklığın etkisi	67
3.7 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Seçicilik Denemeleri.....	68
3.8 SAM ve FLU'nun In Vitro Salım Denemeleri	69
3.8.1 SAM ve FLU salımında başlangınç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi	70
3.8.2 SAM ve FLU salımında pH'ın etkisi	71
3.8.3 SAM ve FLU salımında sıcaklığın etkisi	72
3.9 Simüle Akciğer Sıvısı Ortamında SAM ve FLU Salımı	72
3.10 Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi	74
3.11 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Napopartiküllerin İn Vitro Sitotoksisite Testi	76
4 SONUÇ VE TARTIŞMA.....	77
4.1 Sentezlene Fonksiyonel Monomerlerin Karakterizasyonu.....	77
4.1.1 Fonksiyonel monomer MAAL'ın karakterizasyonu	77
4.1.2 Fonksiyonel monomer MAH'ın karakterizasyonu.....	77

İÇİNDEKİLER (Devam)

Sayfa

4.2 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	78
4.2.1 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR (fourier transform infrared spektrofotometre) ölçümleri	80
4.2.2 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM (taramalı elektron mikroskobu) fotoğrafları	85
4.2.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM (taramalı uç mikroskobu) analizi	85
4.2.4 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin zeta boyut analizi.....	87
4.2.5 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini	88
4.2.6 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin spesifik yüzey alan hesabı	88
4.3 SAM ve FLU' nun Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi	89
4.4 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllere SAM ve FLU Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu	94
4.4.1 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında zamanın etkisi	94

İÇİNDEKİLER (Devam)

	<u>Sayfa</u>
4.4.2 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi	100
4.4.3 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında sıcaklığın etkisi	108
4.5 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Seçicilik Denemeleri.....	111
4.6 SAM ve FLU'nun In Vitro Salım Denemeleri	114
4.6.1 SAM ve FLU salımında başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi.....	114
4.6.2 SAM ve FLU salımında pH'ın etkisi	118
4.6.3 SAM ve FLU salımında sıcaklığın etkisi	121
4.7 Simüle Akciğer Sıvısı Ortamında SAM ve FLU Salımı	124
4.8 Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi	126
4.9 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Napopartiküllerin İn Vitro Sitotoksiste Testi	131
5 DEĞERLENDİRME	138
KAYNAKLAR DİZİNİ	145
TEŞEKKÜR.....	160
ÖZGEÇMİŞ	161
EKLER.....	170

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2-1. Solunum sisteminin yapısı	3
2-2. İnsan hava yollarının mikroyapısının şematik gösterimi	4
2-3. Hava yolu epitelinin bileşenleri.....	6
2-4. Akciğerlerde partiküllerin boyuta bağlı birikiminin şematik gösterimi.....	7
2-5. İnhaler partiküllerin birikim mekanizmaların belirlenmesi.....	10
2-6. KOAH hastalığında hava yolu tıkanıklığının gösterimi	11
2-7. Alerjik astımda indüksiyonu sırasında hava yollarının alerjeni duyarlılığı. .	15
2-8. Nebülizör dizaynları A) Jet nebülizör, B) Ultrasonik nebülizör	25
2-9. Ölçülü doz inhalerlerin temel bileşenleri	27
2-10. Kuru doz inhalerlerin gelişimi.....	29
2-11. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması.....	32
2-12. Salım mekanizmalarına göre kontrollü ilaç salım sistemlerin şematik gösterimi	33
2-13. A) Polimerik nanopartiküllerin, B) Misellerin, C) Lipozomların, D) Katı lipid nanopartiküllerin, E) Dendrimerlerin, F) PEGlenmiş konjugatların gösterimi.....	42
2-14. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi	45
2-15. MIP taşıyıcılarından akıllı “allosterik” ilaç salımının şematik gösterimi. ...	49
2-16. MIP kullanarak hedefli ilaç salımı ve kolaylaştırılmış internalizasyonun şematik gösterimi.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Sekil

Sayfa

2-17. a) Çoklu kalıp baskılamanın, b) çok-fonksiyonel monomer baskılamanın c) model baskılamanın d) segment baskılamanın şematik gösterimi.....	50
3-1. Sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin fotoğrafı	57
3-2. Çift kalıplı moleküler baskılanmış polimerlerin şematik gösterimi	57
3-3. Budesonid ve formoterol fumaratın kimyasal yapısının gösterimi.....	68
3-4. Diyaliz membranları içerisinde salım denemesinin hazırlanması	70
3-5. Vialler içerisinde hazırlanan salım örnekleri	71
4-1. MAH monomerinin ¹ H-NMR spektrumu.....	77
4-2. MAH monomerinin ¹ H-NMR spektrumu ve MAH kimyasal yapısı ve NMR rezonansları	78
4-3. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezinin şematik gösterimi.....	79
4-4. MAAL-SAM ve MAH- FLU ön komplekslerin oluşumdaki kimyasal etkileşimlerin gösterimi.....	80
4-5. MAAL monomerinin, SAM ilacının ve MAAL-SAM ön kompleksin FTIR spektrumları	81
4-6. MAH monomerinin, FLU ilacının ve MAH-FLU ön kompleksin FTIR spektrumları	82
4-7. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin olası kimyasal yapısı.....	83

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4-8. A) MIP, p(HEMA), p(HEMA-MAH); ve p(HEMA-MAAL) nanopartiküllerin ayrı B) MIP, p(HEMA) ve NIP nanopartiküllerin çakışık ATR-FTIR spektrumu.	84
4-9. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM fotoğrafları	85
4-10. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM görüntüleri.....	86
4-11 A) SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin B) Baskılanmamış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin boyut analizi	87
4-12. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin hacim-kütle grafiği.....	88
4-13. Salmeterol ksinafoattın kalibrasyon grafiği	90
4-14. Flutikazon propiyonattın kalibrasyon grafiği	90
4-15. 50 ppm SAM ve FLU standart çözeltisinin kromatogramı	91
4-16. 25 °C metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU ortamın kromatogramı .	91
4-17. Salmeterol ksinafoattın kalibrasyon grafiği	92
4-18. Flutikazon propiyonattın kalibrasyon grafiği	93
4-19. 50 ppm SAM ve FLU standart çözeltisinin kromatogramı	93
4-20. 37 °C metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU ortamın kromatogramı .	94
4-21. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda zamanın etkisi	95

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Sekil

Sayfa

4-22. A) SAM, B) FLU için yalancı birinci mertebe kinetik modeli grafikleri	97
4-23. A) SAM, B) FLU için yalancı ikinci mertebe kinetik modeli grafikleri	98
4-24. A) SAM, B) FLU için Elovich eşitliği grafikleri.....	99
4-25. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere A) SAM, B) FLU adsorpsiyonuna başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi...	101
4-26. Salmeterol ksinafoat'ın Langmuir izoterm grafiği A) Langmuir tip (I), B) Langmuir tip (II), C) Langmuir tip (III), D) Langmuir tip (IV) grafikleri.....	103
4-27. Flutikazon propiyonat'ın Langmuir izoterm grafiği A) Langmuir tip (I), B) Langmuir tip (II), C) Langmuir tip (III), D) Langmuir tip (IV) grafikleri.....	104
4-28. A) Salmeterol ksinafoat'ın, B) Flutikazon propiyonat'ın Freundlich izoterm grafiği	105
4-29. A) SAM, B) FLU'nun Tempkin izoterm grafikleri	106
4-30. A) SAM, B) FLU'nun Dubinin-Radushkevich izoterm grafikleri	106
4-31. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere A) SAM ve B) FLU adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi	109
4-32. A) Salmeterol ksinafoat'ın, B) Flutikazon propiyonat'ın adsorpsiyon termodinamiği grafiği	110
4-33. Budesonid'in kalibrasyon grafiği	112
4-34. Formoterol fumarat'ın kalibrasyon grafiği	112
4-35. 50 ppm budesonid standart çözeltisinin kromatogramı	113

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Sekil

Sayfa

4-36. 24 ppm formeterol fumat standart çözeltisinin kromatogramı	113
4-37. SAM'ın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında başlangınç konsantrasyonunun etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	116
4-38. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında başlangınç konsantrasyonunun etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içerisindeki salımı	117
4-39. SAM'ın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında pH'nın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	119
4-40. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında pH'nın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	120
4-41. SAM'nın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında sıcaklığın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	122
4-42. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında sıcaklığın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	123
4-43. SAM ve FLU'nun, simüle akciğer ortamında SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımı A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı.....	125
4-44. SAM ve FLU salımı için sıfıncı dereceden salım modeli.....	128
4-45. SAM ve FLU salımı için birinci dereceden salım modeli.....	128

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Sekil

Sayfa

4-46. SAM ve FLU salımı için Higuchi modeli.....	129
4-47. SAM ve FLU salımı için Hixson-Crowell modeli.....	129
4-48. SAM ve FLU salımı için Korsmeyer-Peppas modeli	130
4-49. HEK293 hücre hattına ait absorbansa karşılık hücre sayısı grafiği	131
4-50. HEK293 hücrelerinin NP'ler ile muamelesi sonrası morfolojileri	134
4-51. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin HEK293 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini incelemek üzere elde edilmiş hücre canlılığı grafiği. 24 saat sonunda 100 ve 600 µg/mL konsantrasyonlarında toksik etki görülürken 10 µg/mL konsantrasyonundaki nanopartikülde hücre kontrolüne göre canlılıkta anlamlı bir farka sebep olmamıştır (*p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001, ****p≤0.0001).....	135

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2-1. Akciğerin bölgelerindeki birikim, birikim mekanizması ve partikül boyutu arasındaki kolerasyon.....	9
2-2 İnhalasyon cihazların avantaj ve dezavantajları.....	30
3-1. Simüle Akciğer Sıvısının içeriği.....	73
3-2. Güç kanununun n üstel değeri ve farklı geometrik sistemlerden ilaç salım mekanizmaları	75
4-1. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM'ın adsorpsiyon kinetik parametreleri	99
4-2. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere FLU'ın adsorpsiyon kinetik parametreleri.....	100
4-3 Salmeterol ksinafoat için adsorpsiyon izoterm parametreleri.....	107
4-4. Flutikazon propiyonat için adsorpsiyon izoterm parametreleri.....	107
4-5. Salmeterol ksinafoat'ın çeşitli sıcaklıklardaki termodinamik parametreleri	111
4-6. Flutikazon propiyonat'ın çeşitli sıcaklıklardaki termodinamik parametreleri	111
4-7. Salmeterol ksinafoat'ın ve flutikazon propiyonat'ın dağılma, seçicilik ve bağlı seçicilik katsayıları.....	114
4-8. SAM ve FLU'nun simüle akciğre ortamındaki salımının kinetik modellerinin parametreleri.....	130

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
Q	Gram nanopartikül başına adsorplanan madde miktarı (mg),
$C_{\text{başlangıç}} (C_i)$	Başlangıç maddenin konsantrasyonu
$C_{\text{son}} (C_f)$	Adsorpsiyon sonunda belirlenen maddenin konsantrasyonu
Kd	Dağılma katsayısını
K	Seçicilik katsayısı
k'	Bağıl seçicilik katsayısı
k1	Yalancı birinci mertebe adsorpsiyon hız sabiti (saat ⁻¹)
qe	Dengede adsorplanan madde miktarı (mg/g)
qt	T zamanında adsorplanan madde miktarı (mg/g)
k2	Yalancı ikinci mertebe hız sabiti (g/mg.h)
α	Elovich katsayıları, başlangıç adsorpsiyon hızını (mg/g.h)
β	Elovich katsayıları, desorpsiyon katsayısını (g/mg)
KL	Langmuir sabiti (L/mg),
qm	Maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg/g),
Ce	Denge anındaki etken madde konsantrasyonu (mg/L)
RL	Denge parametresai
KF	Freundlich katyasısı

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
KT	Tempkin denge bağlanma sabiti (L/mg);
ΔG°	Gibbs serbest enerji değişimi
ΔH°	Entalpi değişimi
ΔS°	Entropi değişimi
M _t	T anındaki salım miktarı
M _∞	Dengedeki (t=∞) salım miktarını
k _d	Sıfırıncı dereceden kinetiğin ilaç salım sabiti
k _{HC}	Hixson-Crowell ilaç salım sabiti
k _H	Higuchi ilaç salım sabitin
n	Difüzyon üsteli
k	Yapısal/geometrik sabit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (Devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
SAM	Salmeterol ksinafoat
FLU	Flutikazon propiyonat
BS	Budesonid
FF	Formoterol fumarat
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
MIP	Moleküler baskılanmış polimer
IIP	İyon baskılanmış polimer
HEMA	2-Hidroksietilmetakrilat
MAH	2-metakriloilamido histidin
MAAL	2-metakriloilamido alanin
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
KPS	Potasyum per sülfat
PVA	Polivinil alkol
FTIR	Fourier transform infrared spektrofotometre
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPM	Taramalı uç mikroskobu
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

1 GİRİŞ

Sunulan tez çalışmasının amacı; astım, KOAH gibi hastalıkların tedavisinde birlikte kullanılan, salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat ilaçları için literatürde belirtilen çalışmalardan farklı olarak çift baskılanmış nanopartiküller tasarlayarak iki ilacın kontrollü salımında kullanılmasıdır. Bu amaçla literatürdeki çalışmalardan farklı olarak, çift baskılı ve çift ko-monomerden oluşan baskılanmış nanopartiküllerin sentezlenmiş ve karakterizasyonunun ardından salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat ilaçların kontrollü salımında kullanılabilirliğinin araştırılmıştır.

Özellikle gelişmiş ülkelerdeki sanayileşmedeki hızlanma ile birlikte, birçok insan havayolu hastalıklarında sıkıntı çektikleri için çevresel kirlilikler ilgi girerek artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre 2011'de dünyada 235-330 milyon astım hastası vardır ve her yıl yaklaşık 250 000 kişi ölmektedir (Liang et al. 2015). Ayrıca, şimdilerde ölümle sonuçlanan dördüncü hastalık olan kronik obstrüktif akciğer hastalığı 2010 yılında dünyada 329 milyon insanı etkilemiştir. Buna ek olarak, 2012 yılında 8.6 milyon insan tüberküloz hastasıydı ve 1.3 milyon insan tüberküloz yüzünden ölmüştür (Liang et al. 2015). Aynı zamanda, çocuk ölümlerine neden olan en önemli hastalıklarından biri olan zatüre, beş yılda yaklaşık 1.1 milyon çocuğun ölümüne neden olmuştur (Liang et al. 2015).

Bu hastalıkları tedavi etmek ve azaltmak için, oral, parenteral ve pulmoner salım yöntemleri hastalar ve doktorlar tarafından en sık kullanılan ilaç uygulama yollarıdır (Liang et al. 2015). Pulmoner ilaç taşınım, oral yol veya enjeksiyon ile salınım yöntemlerine göre birçok avantajı olan, alternatif bir ilaç taşınım sistemidir (Oh et al. 2011). Akciğerler; geniş yüzey alanına, ince alveolar epitelyumuna, kolay geçirgenli membran yapısına ve geniş damarlı yapıya sahip oldukları için çözünebilir maddelerin ve ilaçların kolay ve hızlı bir şekilde absorplanmasını sağlamaktadır (Oh et al. 2011; Garbuzenko et al. 2014). Ayrıca, pulmoner yolla ilaç salınımında karaciğerin ilk geçiş etkisi de ortadan kaldırması gibi birçok avantaja sahiptir (Zhang et al. 2011). Son yıllarda topikal astım tedavisinde, lokal enfeksiyon hastalıklarında, pulmoner hipertansiyon, kistik fibrosis gibi lokal solunum hastalıkları ve bazı sistemik rahatsızlıklarda inhaler yolla ilaç tedavileri başarıyla

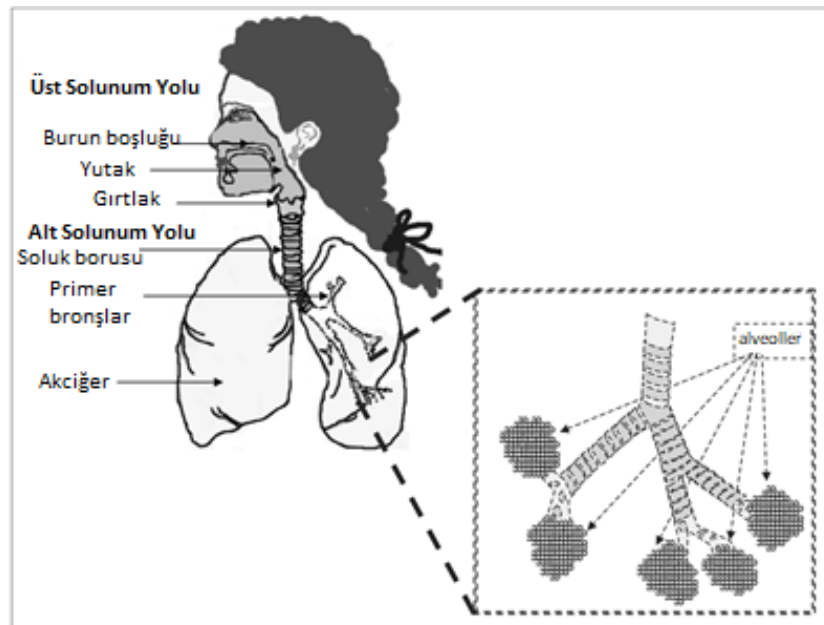
uygulanmaktadır (Garbuzenko et al. 2014). Pulmoner uygulamalar için nanotaşıyıcılar son yirmi yıldır popüler olan bir konudur. Lipozomlar, polimerik miseller, dendrimerler, mezoporoz silika nanopartiküller, nanoyapılı lipid taşıyıcılar gibi farklı nanotaşıyıcıların pulmoner yolla ilaç salımında kullanımı araştırılmıştır. Polimerik taşıyıcılar günlük ilaç dozunun azaltılmasına neden olmaktadır. Partikül boyutu ve yüzey özelliğinden dolayı polimerik taşıyıcılar ilaçların kolaylıkla difüze olmasına sağlamaktadır. Nanaopartiküller ayrıca mukozal yüzeye yapışkanlığının arttırmasıyla ve mukosiliyer klerens'i azaltarak ilaçların alıkonma süresinin uzatılmasını imkân sağlamaktadır. Ayrıca çözelti formülasyonlarıyla kıyaslandığında süspansiyon nanopartiküller iritasyonu ve potansiyel toksisiteyi azaltmaktadır (Zhang et al. 2011; Garbuzenko et al. 2014; Ungaro et al. 2012; Beck-Broichsitter et al. 2012)

Bu tez çalışmasında astım, KOAH gibi hastalıkların tedavisinde kullanılabilecek, nano boyutun avantajlarına sahip, literatürde belirtilen pulmoner yolda kullanılan taşıyıcılardan farklı olarak polimerik yapılı, iki ilaç etken maddesinin kontrollü salımını gerçekleştirebilecek nano taşıyıcılar tasarlanıp, sentezlenmiştir. Sentezlenen nano taşıyıcıdan ilaç etken maddelerin in vitro ortamda salım kinetikleri araştırılmıştır.

2 GENEL BİLGİ

2.1 Solunum Sistemleri

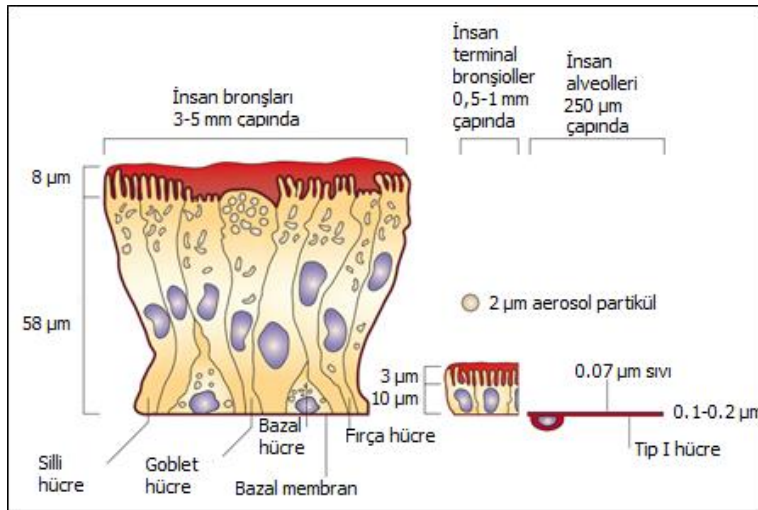
Solunum sistemi, akciğerlerden hücrelere oksijeni iletip, karbondioksiti ise hücrelerden akciğere taşınarak solukla dışarı vermek için dolaşım sistemiyle birlikte çalışır. Hava, kan ve vücut dokuları arasındaki oksijen ve karbon dioksit değişimi solunum olarak bilinir. Sağlıklı akciğerler dakikada yaklaşık 12-15 kez yarım litre hava alır. Vücuttaki tüm kan, her dakika akciğerden geçer (Smola et al., 2008). Solunum sistemi, ağız, burun kavitesi, yutaktan oluşan üst solunum yolları ve boğaz, trake, bronş ve akciğerden oluşan alt solunum yollarından oluşur. Boğazdan (larinksden) başlayan trakea iki bronşa bölünür ve akciğerlerin içine doğru devam eder. Trakea (nefes borusu), havanın boğazdan bronşa ve akciğerlere geçmesini sağlar. Bronşlar, akciğerde hava geçiş yerini oluşturan daha küçük bronşiolle bölünür. Bronşiollelerin son bağlantı noktaları alveollerdir. Alveoller, akciğerlerin işlevsel birimleridir ve gaz alışverişi alanını oluştururlar (Kourmatzis et al., 2018; Patton, 1996; Smola et al., 2008).



Şekil 2-1. Solunum sisteminin yapısı (Smola et al., 2008)

Solunum sistemi ayrıca görevleri açısından iletilci havayolu ve solunum bölgesi olarak iki farklı bölgeye de ayrılmaktadır. İletici havayolu hava taşıma

sistemi gibi davranır ve ağız/burun kavitesi, yutak, boğaz, trakea, bronş ve bronşiyolden oluşur. Solunum bölgesinde solunum bronşiyollerinde ve alveollerde gaz değişimi gerçekleşir İletici bölge, solunum yolunun iki ana bronşa ayrılan ve tekrar daha küçük çaplı bronş ve bronşiyollere ayrılan trakeyi içeren ilk 16 dallanmanın olduğu kısmı oluşmaktadır. Solunum bölgesi, gaz değişimine katılan ve solunum bronşiyollerden başlayan yapılardan oluşur (Beck-Broichsitter et al., 2012; Yang et al., 2008). İnsan akciğeri, yaklaşık 2300 km havayolundan ve 500 milyon alveolden oluşur ve yetişkinlerde akciğerin yüzey alanı yaklaşık olarak 75–140 m² 'dir. Kanın absorplanması için bariyer oluşturan yalancı çok katlı epitelyum akciğerin hava yolunda ve alveollerde çok farklılık gösterir. Hava-kan bariyerin hücre tabaka kalınlığı trake-bronşiyal bölgede $\geq 10 \mu\text{m}$ 'den alveoler bölgede $\leq 0.3\text{--}1 \mu\text{m}$ 'e giderek azalmaktadır. İletken havayolu duvarı, goblet ve submukosal gland hücrelerle gizlenmiş adhesif, viskoelastik mukus tabakasıyla (kalınlığı 5–55 μm) kaplıdır. Bu bölgede herhangi bir partikülün birikmesi, mukosiliyer klerens ile akciğerden taşınır ya da epitelyum hücrelerine ulaşmak için ince mukustan diffuse olur. Alveoller ise ince tek hücreli tabakadan oluşur. Alveollerin geniş yüzey alanı ve bu bölgedeki hava-kan etkileşimin sıkı olması alveolleri, hava yoluna kıyasla nanopartikül gibi inhaler substratlardan daha az korumaktadır (Beck-Broichsitter et al., 2012; Yang et al., 2008).



Şekil 2-2. İnsan hava yollarının mikroyapısının şematik gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Patton and Byron 2007)).

Solunum mukozasının temel bileşenleri glukoprotein ve sudur. Akciğerlerden mukoz klerensi, genellikle mukoz akış hızı yaklaşık 5 mm/dakika olan silyali

hücrelerin (bronko-trakeal hareket) hareketi ile dışarı atılır. Böylece, sağlıklı bir kişide her 20 dakikada bir solunum mukoz bariyeri değişmektedir. Astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve kistik fibroz gibi hava yolu hastalıklarına yakalanan hastalarda bileşim, kalınlık, fizikokimyasal özellikler (örneğin viskozite) ve solunum mukoz klerens sıklıkla değişir. Patolojik durumlar, pulmoner ilaç ve gen taşınım sistemlerin özellikle iletilen hava yollarının dokulara etkin miktarın taşınmasının etkinliğini etkileyebilir. Alveoler boşluk, nefes alma sırasında yüzey gerilimini azaltmak ve nefes verme sırasında alveollerin çökmesini engellemek için kompleks surfaktant tabaka ile kaplıdır. Pulmoner surfaktantlar, kübik tip II pnömositlerden salgılanır ve % 90 lipid ve %10 protein içerir. Tip I pnömositler, alveolar epitel yüzeyin yaklaşık %95'ı kaplayan, geniş yayılıma (yaklaşık 200µm) sahip ince hücrelerdir (≤ 200 nm) (Beck-Broichsitter et al., 2012).

Hava yolları ayrıca alınan havanın ısınması, nemlendirilmesi ve temizlenmesi gibi ek fizyolojik fonksiyonları da yerine getirir. Hava yollarında yabancı maddelerin uzaklaştırılması için etkili temizleme (klerens) mekanizmaları gereklidir. Üst solunum yollarında biriken çözünmeyen partiküllerin çoğunluğu mukosiliyer klerens ile giderilir. Solunum bölgesini en önemli savunma mekanizması makrofaj klerensidir. Akciğerin derinliklerinde biriken partiküller, bronko-trakea hareketi ya da lenfatik sistemi izleyerek akciğere yavaşça göç eden alveolar makrofajlar tarafından tutulabilir. Makrofajlar tarafından yapılan partikül klerens en etkili geometrik boyutu 1 ile 3 µm arasında değişen partiküllerde görülmektedir (Beck-Broichsitter et al., 2012).

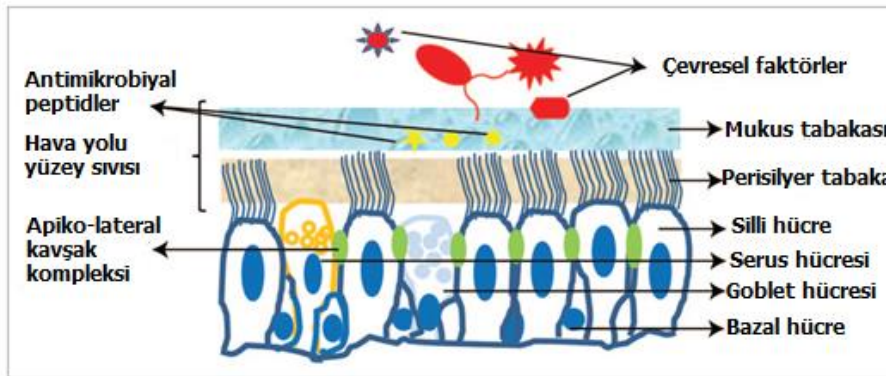
2.1.1 Alveoller

Alveoler boşluk ve pulmoner kapiller arasında kan bariyeri, hızlı gaz değişimine izin vermek için çok incedir. Nefes alma sırasında, oksijen alveol duvarlarından ve dokular arası boşluktan kana doğru difüze olur. Nefes verme sırasında ise karbondioksit ters yönde difüze olur. Alveoller küçüktür ve her akciğerde yaklaşık 300 milyon alveol vardır. Alveollerin küçük yapıları olmasına rağmen, etkili gaz alışverişi yapabilmek için çok geniş yüzey alanına (~ 100 m²) sahiptir. Alveoller, alveol kanalın spiral, silindirik yüzeyi etrafında bir petek hücresi

oluştururlar. Açıkta kalan alveol yüzeyler lipoprotein materyali ile yüzeyi kaplanır (Smola et al., 2008).

Birçok çeşit pulmoner alveol hücreleri vardır. Tip I (ya da küçük tip A) fagositik olmayan, zarsı pnömositlerdir. Bu yüzeyi kaplayan epitel hücreleri yaklaşık 5 µm kalınlığındadır ve merkezi çekirdekleşmiş kısımdan oluşan ince skuamöz sitoplazmik uzantılara sahiptirler. Bu kısımda hiçbir organel yoktur ve bu nedenle metabolik olarak hücrenin merkezi kısmına bağlıdır. Bu durum, hasara uğradıkları zaman kendilerini tamir etme yeteneklerini azaltmaktadır (Ganesan et al., 2013; Smola et al., 2008).

Bazal membrana bağlılar büyük alveoler hücrelerdir (Tip II, tip B ya da septal hücrelerdir). Bu yuvarlak, granüler, epitelyal pnömositler yaklaşık 10 ile 15 µm kalınlığındadır. Alveolar başına 6-7 hücre vardır ve bu hücreler büyük metabolik aktiviteye sahiptir. Akciğeri kaplayan ve virüs ya da kimyasal ajanlar tarafından hasara uğradıktan sonra alveolar tamir için gerekli olan yüzey materyalleri ürettiklerine inanılır (Smola et al., 2008).



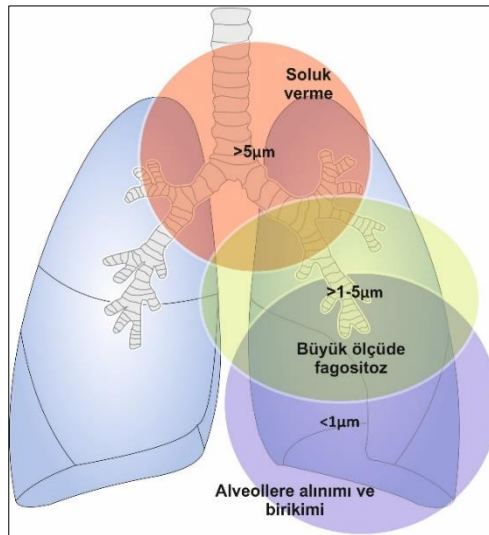
Şekil 2-3. Hava yolu epitelinin bileşenleri (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Ganesan et al., 2013)).

Akciğerlerin önemli görevleri arasında (i) oksijen sağlaması, (ii) atıkların ve toksinlerin uzaklaştırılması ve (iii) zararlılara karşı savunması vardır. Akciğerlerin üç düzine farklı hücre türü var. Bu hücrelerin bazıları yabancı maddeleri uzaklaştırır. Diğerleri en küçük hava kanallarını örten mukozal membranı kaplayan siliyaya sahiptir. Bazı hücreler kan basıncını kontrol altında tutarken diğerleri enfeksiyona neden olan istilacıları tespit eder (Smola et al., 2008).

Solunum sistemi bir takım hastalıklara duyarlıdır ve akciğerler genetik faktörler, enfeksiyon ve havadaki kirleticilerin neden olduğu çok sayıdaki hastalıklara yatkındır. Solunum sistemindeki en yaygın problemler: astım, bronşiyolit, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (COPD; KOAH), soğuk algınlığı, öksürük, sistik fibrozis (CF), akciğer kanseri, akciğer yüksek tansiyonu, yeni doğanda solunum hastalıklarıdır (Smola et al., 2008).

2.1.2 Solunum sisteminde partiküllerin birikim mekanizmaları

Aerosoller, gaz içerisinde (genellikle de havada) katı veya sıvı partiküllerin süspansiyonlarıdır. Aerosollerin partikül kısmı, partiküler madde yada PM olarak adlandırılır. Partikül madde, kimyasal olarak heterojen ayrı sıvı damlacıklarına veya katı parçacıklar için kullanılan genel bir terimdir. Partiküler maddeleri tanımlarken mikron ya da mikrometre (10^{-6} metre) ifadeleri kullanılır. Aerosol içerisindeki partiküler maddelerin çapı 0,001 ile 1000 mikron arasında değişir. Pulmoner yol uygulaması için tasarlanan partiküller boyutlarına göre kategorize edilir; (I) Kaba partiküller çapları 2 mikrondan daha büyük olanlardır. (II) İyi partiküller çapları 0,1 ile 2 mikron arasında olanlardır. (III) Çok iyi partiküller ise çapları 0,1 mikrondan küçük olanlardır (Smola et al., 2008).



Şekil 2-4. Akciğerlerde partiküllerin boyuta bağlı birikiminin şematik gösterimi (Van Rijt et.al., 2014).

Solunum sisteminin farklı bölgelerinde inhaler partiküllerin birikimi çok karışıktır ve birçok faktöre bağlıdır. Nefes alma hızı, ağız veya burun solunumu,

akciğer hacmi, solunum hacmi, kişinin sağlığı, hava yollarındaki bifurkasyon (dallanma) sonucu hidrodinamik akış alanındaki sürekli değişim gibi faktörlerden partiküllerin birikim etkilenmektedir (Smola et al., 2008).

Partikül boyutuna, havanın akış hızına ve solunum sistemindeki bölgeye bağlı olarak, partikül birikimi başlıca üç mekanizma ile gerçekleşmektedir. Bunlar interiyal impaktör, yerçekimine bağlı sedimentasyon ve brownian difüzyon (Smola et al., 2008; Yang et al., 2008).

2.1.2.1 İmpaksiyon

Eğer partikül çapı 5 μm 'den büyükse, interiyal impaksiyon orofarinks ve geniş iletilici hava yolundan geçerken oluşur. Hava yollarında bir bifurkasyona bağlı olarak hava akımı değiştikçe, asılı parçacıklar interiyal (eylemsizlik) nedeniyle orijinal yollarında ilerleme eğiliminde olurlar ve hava yolu yüzeyinden etkilenirler. Bu mekanizma aerodinamik çapa oldukça bağımlıdır, çünkü çok küçük partiküllerin durma mesafesi oldukça düşüktür. İmpaksiyon genellikle yoğunlukla ilk havayolu bifurkasyonlarının yakınında bulunan, havayolu duvarlarına çok yakın olan büyük partiküllerde meydana gelir. Bu nedenle, impaksiyona yoluyla birikim (deposizyon) bronşiyol bölgede daha fazladır. İmpaksiyon, kütle temelli partikül birikiminin büyük bir yoğunluğunu nedenini açıklar (Smola et al., 2008; Yang et al., 2008).

2.1.2.2 Sedimentasyon

Sedimentasyon, hava akımının düşük olduğu ve havayolu çapının küçük olduğu bronşiollelerin ve alveollerin küçük hava yollarındaki partiküllerin çökmesidir. Sedimentasyon hızı, partiküllerin terminal çökme hızına bağlıdır, bu nedenler sedimentasyon, büyük aerodinamik çaplara sahip partiküllerin birikiminde önemli rol oynar. Higroskopik partiküller, sıcak, nemli geçitlerinden geçtiğinde boyutları büyüyebilirler, böylece sedimentasyon ile birikme olasılıkları artar (Smola et al., 2008).

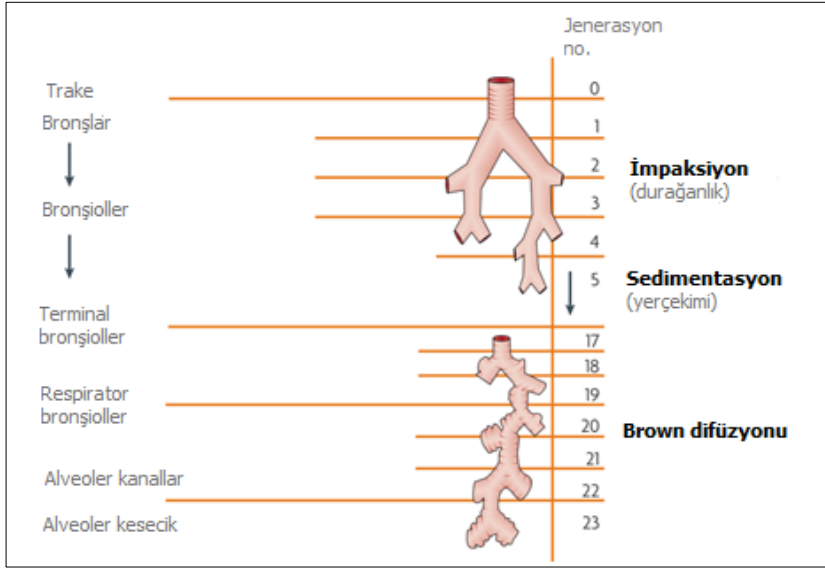
2.1.2.3 Difüzyon

Difüzyon, çapı 0,5 mikrondan daha küçük olan partiküller için başlıca birikim (depozisyon) mekanizmasıdır ve geometrisinden ziyade aerodinamik boyutu difüzyonu yönetir. Difüzyon, partiküllerin Brown hareketinden dolayı, partiküllerin yüksek konsantrasyonlu bölgeden düşük konsantrasyonlu bölgeye taşınmasıdır. Brown hareketi, hava moleküllerinin sürekli bombardımanı nedeniyle partiküllerin rastgele hareketidir. Difüzyonel birikim çoğunlukla parçacıklar nazofarenksa girdiği zaman oluşur. Ayrıca hava akışının düşük olduğu pulmoner (alveoler) bölgenin küçük hava yollarında da oluşmaktadır (Smola et al., 2008).

Partikül boyutu ile ilaç birikim alanları arasındaki ilişki aşağıdaki Çizelge 2-1’de verilmiştir.

Çizelge 2-1. Akciğerin bölgelerindeki birikim, birikim mekanizması ve partikül boyutu arasındaki korelasyon ((Paranjpe and Müller-Goymanın, 2014).

Bulunduğu Yer	Boyut	Mekanizma
Birincil Bronş	5-10 μm	İmpaksiyon
İkincil Bronş	1-5 μm	Sedimentasyon
Bronşiooller	1-3 μm	Sedimentasyon
Alveoller	0,5-1 μm	Brown Hareketi



Şekil 2-5. İnhaler partiküllerin birikim mekanizmaların belirlenmesi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Patton and Byron 2007)).

2.2 Solunum Sistemi Hastalıkları

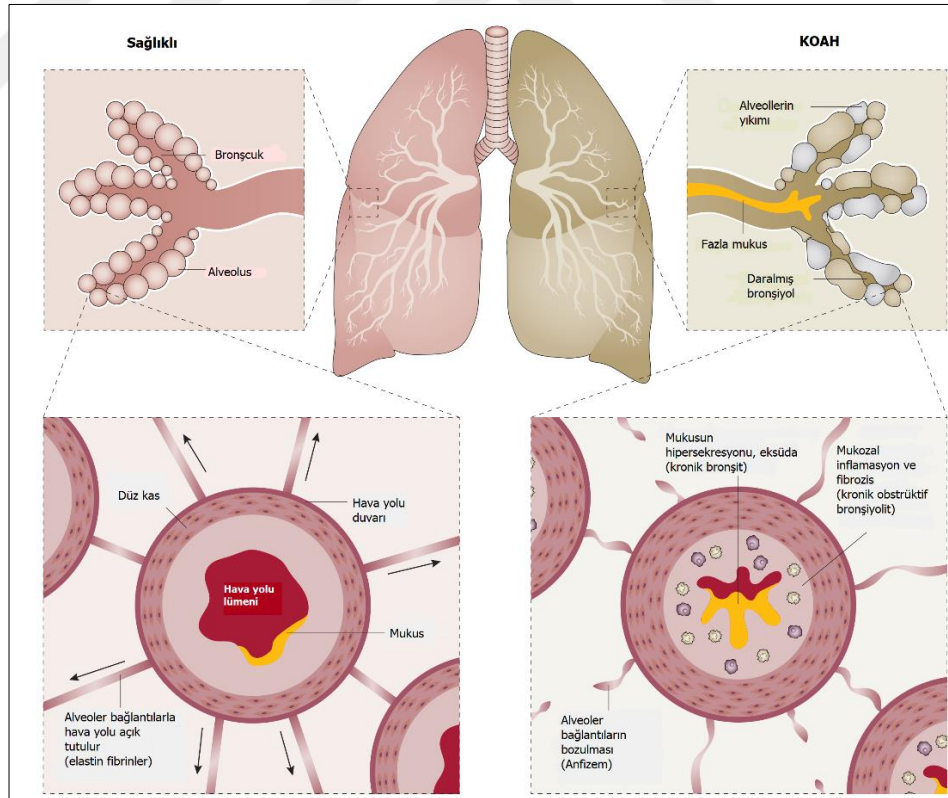
2.2.1 Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), önemli bir halk sağlığını sorunudur ve dünya çapında kronik hastalık ve ölümlerin başlıca nedenidir. KOAH şu anda dünyada ölüme sebep olan 4. hastalık olarak görülmektedir fakat 2020 yıllarında 3. sırayı alacağı tahmin edilmektedir. Dünyada, 2012 yılındaki 3 milyondan fazla insan KOAH nedeniyle hayatını kaybetmiştir, bu değer tüm ölümlerin %6'sına karşılık gelmektedir. Dünya genelinde, KOAH risk faktörlerine maruziyetin artması ve popülasyonun yaşlanması nedeniyle önümüzdeki on yılda KOAH hastalığının artacağı tahmin edilmektedir (Alvar et al., 2010).

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), genellikle önemli miktarda toksik olmayan partiküllere veya gazlara maruz kalınmasının neden olduğu hava yolu ve/veya alveoller anomaliklerle karakterize edilen, sık görülen, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. KOAH'ın karakteristik hava yolu tıkanıklığı, karışık küçük hava yolu hastalıklarına (ör., obstrüktif bronşiyolit), parankimal tahribata (amfizem), kişiden kişiye değişen çeşitli etkilerin oluşmasına neden olur. En yaygın solunum semptomları, nefes darlığı, öksürük ve/veya balgam oluşumudur (Alvar et al., 2010; Barnes et al., 2015).

KOAH 'da hava akımı sınırlaması akciğerdeki yapısal değişiklikler nedeniyle büyük oranda geri dönüşümsüzdür. Bu değişiklikler, küçük havayolları (< 2-mm iç çap) fibrozis yüzünden kronik obstrükti bronşiyolit ve alveollerin genişlemesi ve alveolar duvarın tahrip edilmesi ile karakterize edilen amfizemi içerir. KOAH'da hava yolu tıkanıklığı genellikle yavaş ilerler ve akciğer fonksiyonundaki normal düşüşün bir hızlanmasını temsil eder, ancak akciğer büyümesinin zayıf olması nedeniyle maksimal akciğer hacimleri azalırsa normalde normale yakın düşüşle de meydana gelebilir. Progresif hava yolu tıkanıklığı dispne (eforla nefes darlığı) ve sonuç olarak egzersiz sınırlamasına neden olur (Barnes et al., 2015).

KOAH hastalığı nedenleri olarak tütün kullanımı, hava kirliliği, mesleki maruziyet (organik, inorganik tozlar, kimyasal ajanlar gibi), genetik faktörler, yaş ve cinsiyet, akciğer büyümesi ve gelişimi, sosyoekonomik durum, astım ve hava yolu hiper-reaktivitesi, kronik bronşiyolit, enfeksiyon sayılabilir (Alvar et al., 2010).



Şekil 2-6. KOAH hastalığında hava yolu tıkanıklığının gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Barnes et al., 2015))

2.2.2 Astım

Astım, farklı ülkelerde nüfusun% 1-18'ini etkileyen yaygın, kronik bir solunum hastalığıdır. Astım, hırıltı, nefes darlığı, göğüs sıkışması ve/veya öksürük ve değişken ekspiratuvar hava akımı sınırlaması ile karakterize edilir. Hem semptomlar hem de hava akımı sınırlaması karakteristik olarak zamana ve yoğunluğa göre değişir. Bu değişimler genellikle egzersiz, alerjen ya da iritantlara maruziyet, hava değişimi ya da viral solunum yolu enfeksiyonu gibi faktörler tarafından tetiklenir (Gina Science Committee, 2016; Holgate et al., 2015).

Semptomlar ve hava akımı sınırlaması, kendiliğinden veya ilaç tedavisine yanıt olarak giderilebilir ve bazen bir haftalarca ya da aylarca sürebilir. Bunun yanı sıra hastalar, hayatı tehlike yaratabilecek episodik astım alevlenmeleri (astım atakları) yaşayabilirler. Astım, genellikle doğrudan veya dolaylı uyaranlara ve kronik hava yolu inflamasyonu ile birlikte hava yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkilidir. Semptomlar yokken veya akciğer fonksiyonları normal olduğunda bile bu özellikler genellikle devam eder, ancak tedavi ile normale döner (Gina Science Committee, 2016).

Son yıllarda hem astımın prevalansı hem de insidansı dünya çapında artmaktadır. Bu durum, sadece genetik faktörler değil, “modern yaşam tarzı” çatısı altında yer alan birçok çevresel risk faktörleri nedeniyle oluşmaktadır. Bununla birlikte, son yıllarda gelişmekte olan ülkeler hastalık prevalansını düşürdüklerinin ileri sürseler de dünya çapında ekonomik küreselleşme, astım yükünde önemli bir artışa katkıda bulunmuş olabilir (Nunes et al., 2017).

Astım, esas olarak, astım hastasının ömrü boyunca farklı şiddet dereceleriyle yaşam boyu ak ortaya çıkma eğilimi gösteren kronik bir inflamatuvar hastalıktır. Hipokrattan beri astım, tüm yaş gruplarından insanları etkiler şeklinde tanımlanmıştır ve çocukluk çağında en yüksek insidansa sahiptir (Nunes et al., 2017).

2.2.2.1 Astım epidemiyolojisi

Global Strategy for Asthma Management and Prevention by the Global Initiative for Asthma (GINA) 2017 raporuna göre astım, dünya genelinde 300 milyondan fazla kişi etkileyen bir kronik hastalıktır. 2025 yılında muhtemelen 100 millyondan fazla insanın astım hasta olacağı tahmin edilmektedir (Gina Science Committee, 2016) Yüksek gayri safi yurt içi hasılaya sahip ülkelerde astım prevalansı en yüksek olmasına rağmen, hastalık dünya çapında tanınır. En düşük gelirli ve en kırsal ülkelerde, astım prevalansı, gelişmiş batı ülkelerinde genellikle görülen% 10'dan çok daha düşük% 1'dir. Belirtilen gayri safi yurt içi hasılatının popülasyonu içinde, astı prevalansı kenten-kırsala doğru ve zayıf bir enine gradiyent takip eder, yani ekvatorndan uzaklaştıkça hastalık prevalansı da artar ve astım kentsel alanlarda daha sık görülür (Holgate et.al., 2015).

Genel popülasyondan elde edilen son veriler, 5 yaşına kadar olan çocuklarda genel astım insidans hızı yılda 23 / 1,000 çocuk olduğunu göstermiştir. Bu insidans hızı, 12-17 yaş arasındaki gençlerde ise yılda 4,4/1,00 olarak azalmıştır. Yetişkin kadınlarda yetişkin erkeklere göre astım insidansı 1,8 kat daha fazladır (sırasıyla 4.9/1000 ve 2.8/1000). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'de Ulusal Sağlık Hizmetleri anketleri (NHIS) -2012 göre yaklaşık 40 insan yaşam boyu astımdan (ABD nüfusunun % 13'ü) ve 26 milyon insan (%18) mevcut astımdan muzdariptir. Farklı ülkelerdeki yaşam boyu astım prevalansının, genel popülasyonun % 1 ila 18'i arasında değiştiği tahmin edilmektedir (Nunes et al., 2017).

Türk Toraks Derneği Astım Tanı ve Tedavi Rehberi 2016 verilerine göre, dünya çapında gerçekleşen her 250 ölümden birinin astım nedeniyle olduğu ve astımdan dolayı dünyada yılda yaklaşık 250.000 kişinin öldüğü tahmin edilmektedir. Prevalans ve mortalite rakamları arasında net bir ilişki görülmemekle birlikte, astıma bağlı ölümlerin çoğunluğu önlenabilir nedenlere bağlı olduğu görülmektedir. Ülkemizde 2000 yılında yürütölmüş olan Ulusal Hastalık Yüğü Çalışması'nda hastalık yüğü sıralamasında astımın %1.3 ile kentsel alanda on dördüncü sırada, kırsal alanda ise %1.1 ile dokuzuncu sırada yer aldığı belirlenmiştir (Sağlık Bakanlığı 2006; Türk Toraks Derneği 2016).

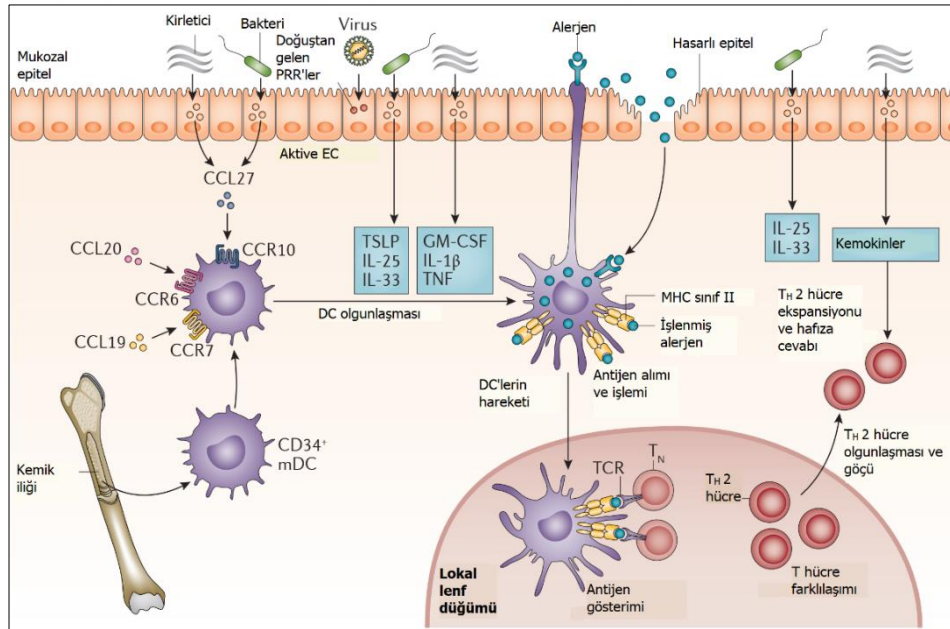
2.2.2.2 Astım patogenezi

Hava yolu inflamasyonu, astımın en önemli özelliğidir. T2 tip inflamasyonu çocukların %80'inde ve yetişkinlerin büyük birçoğunluğunda toz akarları, mantarlar, evcil hayvanlar ve polenler gibi çevresel alerjenlere karşı duyarlılıkla ilişkili olarak ortaya çıkar. Bu duyarlılaşma genellikle atopik dermatit (egzama), alerjik rinokonjoktivit ve besin alerjisi gibi diğer klinik bulgularla da ilişkilidir. T yardımcı hücre tip 2 (T_H2) lenfosit yanıtlarına eşlik eden inflamatuvar başlıca eozinofillerden oluşur, aynı zamanda mast hücrelerini, bazofilleri, nötrofilleri, monositleri ve makrofajları da içerir (Holgate et. al., 2015). Hücresel aktivasyon ve astımdaki inflamatuvar mediatörlerin salınması, mast hücre degranülasyonu ve eozinofil boşluk oluşumu ile kanıtlanmıştır. Hafif-orta dereceli alerjik astımda mukozal mast hücrelerinin çoğunluğu T_H2 hücrelerine bağlı triptaz eksprese edici türden (MCT) 'dir. Astımın daha inatçı formlarında, hem triptaz hemde kimaz (MCTC) içeren mast hücreleri baskındır; bunlar, kök hücre faktörüne (ayrıca KIT ligandı olarak da bilinir) hayatta kalmaları için MCT hücrelerinden daha fazla bağımlıdır (Holgate et. al.,2015; Patton and Byron 2007).

Astımlı hava yolunda T hücrelerin başlıca görevi, inflamatuvar hücre profilini kontrol etmektir. Klasik alerjik astımda T_H2 $CD4^+$ lenfositlerin aktivitesi baskınken, farklı astım alt tiplerinde bir dizi diğer T hücrelerinin görevleri, T_H1 hücreleri ve T_H17 hücreleri nötrofilik astım ile birlikte tanımlanmaktadır. Eozinofilik astımda ve alerjik olmayan astımda T2 tipi bağışıklık tepkilerinin başlatılması, epitelyal hücre-türevi sitokinler IL-25, IL-33 ve timik stromal lenfopoietinin (TSLP) salgılanması ile gerçekleşir. Bu sitokinler, yeni doğal lenfoid alt kümelerin (nuositler, grup 2 kaynaklı lenfosit hücreleri (ILC2s)) T2 tip sitokinlerden IL-5, IL-9 ve IL-13'ü üretmesine sebep olur (Holgate et.al., 2015; Barnes 2008). IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi sitokinlerin etkisiyle epitelyal hasar ve strese sorumlu epitelyal growth faktör (EGF) gibi büyüme faktörleri salınır (Türk Toraks Derneği, 2016).

Alerjen hassasiyeti ayrıca hava yolu dendritik hücrelerinde (DC) bulunan özelleşmiş antijen ile T hücreleri arasında etkileşim gerektirir. Bu mekanizma, alerjen küçük peptitlerin ve bu işlenmiş peptidlerin doğal T hücrelerinin T hücresi

reseptörlerine seçimli majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) sınıf II olarak işlenmesini içerir. Etkili alerjen sinyalleşmede ayrıca, T hücrelerinin TH2 tip T hücrelere farklılaşmasına neden olan DC ve T hücreleri arasında yardımcı uyarın gerekmektedir. Bu T_H 2-tip T hücreleri, alerjik astımın özelliği olan IgE, mast hücresi ve eozinofilik yanıtlara yol açan öncü alerjik sitokinleri IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 ve granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktörü (GM-CSF) salgılar. Birçok astım ile ilgili alerjenler, toz akarı, hamamböceği, hayvan ve mantar kaynaklarından olanlar gibi, epitelyal bariyere nüfuz etmelerini ve doğrudan mukozal DC'ler ile etkileşime girmelerini sağlayan enzimatik özellikler gösterirler. Bu durumda, pasif DC'ler hücre adezyon ve yardımcı uyarıcı molekülleri eksprese eden forma dönüşür. Bu moleküller, alerjen sunumunu kolaylaştıran bir immünolojik sinaps oluşturmak için DC'ler ile etkileşime giren doğal T hücreleri tarafından tanınır. Alerjen spesifik T_H 2 hücrelerinin küçük bir kısmı, IgM'den IgE'ye geçiş yapan immünoglobulin sınıfını başlatmak için B hücresi folikülüne göç ederken, diğerleri kemoatraktanların etkisi altında T2-tipi inflamatuvar yanıtı ortaya çıkarmak ve pro-allerjik sitokinlerin sekresyonun koordineli olarak hava yolu mukozasına yerleşir (Holgate et.al., 2015; Patton and Byron 2007).



Şekil 2-7. Alerjik astımda indüksiyonu sırasında hava yollarının alerjeni duyarlılığı (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Holgate et.al., 2015)).

2.2.2.3 Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar

Astım, bronkodilatörler ile genellikle geri dönüştürülebilen nefes darlığı ve bronkospazm ile birlikte akut alevlenme dönemleri olan kompleks bir kronik hastalıktır. Hastalık belirtileri göz önüne alındığı zaman, astım hastaları astım alevlenmelerini kontrol altına almak ve devamlılığını sürdürebilmek için hem kısa süreli tedaviye hem de uzun süreli tedaviye ihtiyaç duyarlar. Uzun süreli tedavi, gelecekteki riskleri, yani astım ataklarını ve akciğer fonksiyonundaki bozulmayı azaltmak için çok önemlidir. (Nunes et al., 2017)

Astım tedavisinde kullanılan genel olarak kontrol edici ve rahatlatıcı (semptom giderici) ilaçlar olarak ikiye ayrılır. Antiinflatuar etkiye sahip kontrol edici ilaçlar, astımın kontrol altında tutulmasını sağlar. Her gün ve uzun süreli kullanım gerektirmektedir. Gerektiğinde kullanılan rahatlatıcı ilaçlar ise hızlı etki ederek bronkokonstrüksiyonu geri döndürüp, semptomların giderilmesini sağlar. Tedavide kullanılan ilaçlar inhalasyon, oral veya parenteral olarak uygulanabilir. (Türk Toraks Derneği, 2016).

2.2.2.4 Kontrol edici ilaçlar

a) İn hale steroidler (ICS)

İnhale steroidler, persistan (inancı) astımların tedavisinde kullanılan en tekili anti-inflatuar ilaçtır. Yapılan çalışmalar bu ilaçların, astım semptomlarını, hava yolu aşırı duyarlılığını, hava yolu inflamasyonunu, astım alevlenmelerinin şiddetini ve sayısını azaltırken, yaşam kalitesini arttırdığını, akciğer fonksiyonunu iyileştirdiğini ve astım mortalitesini azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, astım hastaları inhale steroid kullanımı bırakmaları halinde, hastarın %25'inin altı ay içerisinde atak geçirebileceği belirtilmektedir. Ayrıca, inhale steroid kullanmayan hastaların hava yolu yeniden yapılanması (remodelling) ve akciğer fonksiyon kaybı risti arttığı ifade edilmektedir (GINA 2017).

Yapılan birçok çalışmada inhale steroidlerin en sık görülen lokal yan etkileri ses kısıklığı (disfoni), üst solunum yolu irritasyonuna bağlı oluşan öksürük ve orofaringeal olarak tanımlanmaktadır (Roland et al., 2004). İnhaler steroidlerin

sistemik yan etkileri, özellikle yüksek dozda ve uzun süre kullanımında, ciltte morluk oluşumu, böbrek üstü bezlerin baskılanması ve kemik mineral yoğunluğunun azalmasıdır (Türk Toraks Derneği, 2016).

b) İn hale steroid ve uzun etkili beta2-agonist kombinasyonları (ICS/LABA)

Tek başına orta dozda inhale steroid ile astım kontrolü sağlanamıyorsa, tedaviye uzun etkili beta2-agonistin ilave edilerek devam edilebilir. Uzun etkili beta2-agonistin inhale steroide eklenmesi ile astımın klinik bulgularında düzelme, astım ataklarında azalma elde edilir. İki ilacın kombinasyonların uygulandığı hastalarda, inhaler steroidin tek başına kullanıma kıyasla daha düşük dozda daha hızlı iyileşme görülmüştür. Yapılan çalışmalar, inhale steoid ve uzun etkili beta2 aganistin kombinasyonları, ilaçları ayrı ayrı uygulanmasından daha etkili olduğu göstermiştir (GINA 2017).

Günümüzde astımın idame tedavisi için kullanılan inhale steroid ve uzun etkili beta-2agonist kombinasyonları:

- Beklometazon/formoterol,
- Budesonid/formoterol,
- Flutikason furoat/vilanterol trifenoat (günde bir defa),
- Flutikazon propionat/formoterol,
- Flutikazon propionat/salmeterol,
- Mometazon/formoterol'dur.

Günümüzde astımın idame ve rahatlatıcı tedavi olarak kullanılan düşük dozlu inhale steroid ve uzun etkili beta-2agonist kombinasyonları:

- Beklometazon/formoterol,
- Budesonid/formoterol' dür (GINA 2017).

Uzun etkili beta-2 agonistleri ile tedavide baş ağrısı ve kramplar görülebilir, fakat oral beta-agonist tedaviye göre kardiyovasküler stimülasyon, iskelet kası

tremoru ve hipopotasemi gibi sistemik yan etkileri daha az yaygındır (Türk Toraks Derneği, 2016).

Salmeterol/ Flutikazon propionat

Salmeterol (Salmeterol ksinafoat) astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve ayrıca egzersizle indüklenen astımın önlenmesi için kullanılan uzun etkili bir beta2-adrenerjik reseptör agonist ilacıdır. Inhale salmeterol, diğer beta2-agonistleri gibi çalışır ve astımın alevlenmesini tedavi etmek için hava yolundaki düz kasları gevşeterek bronkodilasyona neden olur (Hatami et al., 2013).

Flutikazon propionat ise 17 β -karbotiyoat serisi androstan analoglarından türetilen topikal olarak aktif bir glukokortikosteroid ilaçtır. Birçok hastalıkta anti-inflamatuvar olarak kullanılan güçlü bir kortikosteroid ilaçtır. Flutikazon propionat, alerjenlerin geç reaksiyonu engeller ve hava yolu aşırı duyarlılığını azalır. Sitokin üretimini, adhezyon protein aktivasyonunu ve inflamatuvar hücre göçünü ve aktivasyonunu inhibe eder (NHLBI 2007).

Astım, kronik inflamasyon ve bronkokonstrüksiyonu içeren hava yolları hastalığıdır. Astım tedavisinin amacı semptomları kontrol altına almak, alevlenmeleri azaltmak ve en az yan etki ile normal akciğer fonksiyonlarını sürdürmektir. Anti-inflamatuvar tedavi (özellikle inhale kortikosteroid [ICS] tedavisi) astım tedavisinin temel dayanağı olmasına rağmen persistan astımla birlikte, ICS tedavisinin kullanılmasına rağmen, sıkıntılı semptomlar, alevlenmeler ve akciğer fonksiyonlarında bozulmaya devam eder. Bu hastalara, optimum astım kontrolü sağlamak için başka ajanların eklenmesini gerektirir. Astımın hem inflamatuvar hem de bronkokonstriktif bileşenlerini ele almak için flutikazon propiyonat ve salmeterol tek bir formülasyonda birleştirildi. Flutikazon propiyonat/ salmeterol kombinasyonu, farklı derecelerde astım şiddeti olan yetişkin ve pediatrik hastalarda astım kontrolünü iyileştirdiği gösterilmiştir. Flutikazon propiyonat ve diğer inhaler kortikosteroidlerle alınan uzun etkili- 2-agonist salmeterolün, inhaler kortikosteroidlerin en az iki dozundan daha iyi astım kontrolü sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, flutikazon propiyonat/ salmeterol kombinasyonları ile ayrı ayrı inhalatörler yoluyla verilen her iki ilaçla da elde edilen astım kontrolünü

kıyaslandığında, flutikazon propiyonat/ salmeterol kombinasyonların üstün kontrol sağladığı görülmüştür. Hayvanlarda veya insanlarda inhalasyon yoluyla birlikte uygulanan salmeterol ve flutikazon propiyonatın birbirlerinin farmakokinetiğini etkilediğine dair herhangi bir bulgu da bulunmamaktadır (Nelson et al, 2000).

Piyasada salmeterol + flutikazon etken maddesi içeren ilaçların bazıları aşağıdaki gibidir:

- AIRPLUS 25/125 mcg, 25/250 mcg, 25/50 mcg, inhalasyon için ölçülü dozlu aerosol 120 doz,
- AIRPLUS 50/100 mcg, 50/250 mcg, 50/500 mcg DISCAIR inhalasyon için toz 60 doz,
- AIRTIDE 100 mcg/50 mcg, 250 mcg/50mcg, 500 mcg/50 mcg inhalasyon için toz içeren kapsül,
- ASTER SANOHALER 50/100 mcg, 50/250 mcg, 50/500 mcg inhalasyon için toz 60 doz,
- BREQUAL 50/100 mcg, 50/250 mcg inhalasyon için toz içeren 60 kapsül
- SERETIDE 100 mcg, 250 mcg, 500/50 mcg 60 doz DİSKUS
- SERETIDE INHALER 125 mcg, 250mcg 120 doz.

Günlük alınan toplam doz miktarı tedavi şekli ve kullanılan doza bağlı olarak 1000 mcg geçmemektedir (İlacabak 2019).

c) Lökotrien antagonistleri

Lökotrien antagonistleri olarak, sisteinil-lökotrein 1 (CysLT1) reseptör aganonisti (LTRA)(montelukast, pranlukast, zafirlukast) ve 5-lipooksijenaz inhibitörü (zileuton) içerir. Klinik çalışmalar; lökortien antagonistlerin küçük ve değişken bronkodilatör etkiye sahip olduğu, öksürük gibi semptomları azalttığı, akciğer fonksiyonunu geliştirdiği, hava yolu inflamasyonunu ve astım alevlenmesini azalttığını göstermiştir. Ayrıca, hafif persistan astım hastası yetişkinlerde alternatif tedavi olarak kullanılabilir ve bazı aspirine duyarlı astım hastalarında lökotrien antagonistleri iyi cevap verebilirler (GINA 2017).

Lökotrien antagonistleri iyi tolere edilir. Zileuton karaciğer toksisitesi ile ilişkilidir ve tedavi süresinde karaciğer testlerinin izlenmesi tekrar edilmelidir (GINA 2017; Türk Toraks Derneği, 2016).

d) Kromonlar

Yetişkinlerde uzun süreli astım tedavisinde sodyum kromoglikat ve nedokromil sodyumun rolü sınırlıdır. Antiinflamatuvar etkileri zayıftır ve düşük doz inhaler kortikosteroidlerden daha az etkilidir. Önemli yan etkileri bilinmemektedir (GINA 2017).

e) Sistemik kortikosteroidler

Hava yolu inflamasyonunu tedavisinde kullanılan en güçlü ilaçlardandır. Uzun süreli tedavide, ağır ve kontrol altına alınamayan astım hastalarında oral kortikosteroid kullanımı gerekebilir, fakat önemli yan etkilerinden dolayı kullanımı sınırlıdır. Uzun süreli tedavide inhaler kortikosteroidlerin teröpatik indeksi (yarar/yan etki) her zaman daha olumludur. Sistemik kortikosteroidlerin kısa süreli kullanımı şiddetli akut alevlenme tedavisinde önemlidir, çünkü alevlenmenin ilerlemesini engeller, acil servislere ve hastaneye sevk ihtiyacını azaltır, erken nüks etmesini engeller ve morbiditeyi azaltır. Akut astımda sistemik kortikosteroidlerin başlıca etkisi sadece 4 ile 6 saat sonra belirginleşir (GINA 2017).

Uzun süreli oral ya da paranteral kortikosteroid tedavisinin yan etkileri osteoporoz, hipertansiyon, diyabet, hipotalamo-hipofizer-adrenal aksın baskılanması, obezite, katarakt, glokom, deride stria oluşumu ve kolay morluk oluşumuna yol açan deri incilmesi ve kas zayıflığıdır. Uzun süreli sistemik kortikosteroid kullanan astım hastaları osteoporoz açısından önleyici tedavi almalıdır (GINA 2017; Türk Toraks Derneği, 2016).

f) Teofilin

Uzun süreli tedavide: teofilin, zayıf bronkodilatördür ve düşük dozda verildiği zaman hafif anti-inflamatuvar özellik gösterir. Uzun süreli salımda formülasyonları için uygundur. Teofilin, inhaler steroidler ve inhale steroid ve uzun

etkili beta2-agonist kombinasyonları ile kontrol altına alınamayan yetişkin astım hastaları için bir seçenek olarak kullanılır. Kısa süreli tedavide: İnhaler kısa etkili beta2 agonisti kullanan akut astım hastalarında intravenöz aminofilin verilmesi plaseboya kıyasla önemli bir bronkodilatör etki göstermemmiştir (GINA 2017; Türk Toraks Derneği, 2016).

Teofilinin yan etkisi, özellikle yüksek dozda (10 mg/kg vücut ağırlığı/gün ya da fazlası) etkilidir ve kullanılabilirliğini azaltır. Yan etkiler olarak, gastrointestinal semptomlar, ishal, kalp atım bozukluğu, felç ve ölüm söylenebilir (GINA 2017).

g) Oral beta2-agonistler

Kısa etkili oral beta2-agonistler inhaler ilaç olarak kullanımı az sayıda hasta için uygun olabilir. Yan etki prevalansı yüksek bir ilaç grubudur. Uzun etkili oral beta2-agonistler yavaş salım formülasyonlu salbutamol, terbutalin, bambuterolü içerir. Ender durumlarda, ek bronkodilatör gerektiğinde kullanılır (GINA 2017).

Oral uzun etkili beta agonistlerin yan etkileri inhaler beta2-agonistlerin yan etkilerinden daha fazladır ve kardivasküler uyarım (taşikardi), anksiyete, iskelet kası tremoru gibi hastalıkları içerir (GINA 2017;Türk Toraks Derneği, 2016).

h) Anti-IgE

Anti-immünoglobülin E (anti-IgE, omalizumab), 6 yaşından büyük şiddetli kalıcı alerjik astım hastası ve kortikosteroid (oral/parenteral) tedavisi ile kontrol altına alınamayan serum IgE değeri yüksek hastaların tedavisinde kullanılan alternatif bir yoldur. Anti-IgE tedavisi pahalı bir tedavidir. Düzenli olarak 2-4 haftada bir subkutan yolla enjeksiyon gerektiren bir yöntemdir ve her enjeksiyon sonrası gözlenmesi gerekir. Omalizumab, serbset IgE molekülüne bağlanarak IgE'nin ağır zincirinin mast hücreleri ve bazofiller üzerinde bulunan reseptörüyle etkileşimini engelleyerek etkisini gösterir. Omalizumab kullanımı alerjik rinit, astım, Churg-Strauss sendromu, atopik egzama, ürtiker, anjioödem, lateks alerjisi ve aynı zamanda künt reaksiyonları denemek için alerji immünoterapisi gibi çeşitli alerjik durumlarda değerlendirilmiştir. (Miller et al., 2008; GINA 2017).

Anti-IgE, alevlenme riski yüksek olan şehir hayatında yaşayan çocukları da dahil astım hastalarında ilave tedavi olarak güvenli bir yöntemdir. Yan etki olarak, omalizumab enjeksiyonları uygulanan hastalarda lokal reaksiyonlar görülebilir. Bunlar genellikle morarma, sıcaklık, kızarıklık, şişme, ürtiker benzeri erüpsiyon olarak kendini gösterir. Lokal reaksiyonlar bazen şiddetlidir (% 12'ye kadar enjeksiyon). Anafilaksi yaklaşık % 0.1 enjeksiyonda ortaya çıkabilir (Miller et al., 2008).

1) Anti IL-5

İnterlökin (IL)-5 eozinofil kaynaklı en spesifik sitokin olarak kabul edilir ve astımda inflamasyon yollarında temel ortak payda olarak tanımlanmıştır. IL-5 eozinofil proliferasyonunda, farklılaşmada, matürasyonda, doku bölgelerine göç ve hayatta kalmada ve aynı zamanda eozinofil apoptozun önlenmesinde önemli bir rol oynar. Anti-interlökin (anti-IL)-5, eozinofilin olgunlaşmasını ve hayatta kalması için gerekli olan IL-5'i hedefleyen nötralize antikordur. Ani-IL-5 tedavisi, kortikosteroid (oral/parantral) veya uzun etkili beta agonistleri ile tedavisi kontrol altına alınamayan ya da astımı kontrol altına olmak için yüksek dozda kortikosteroid gerektiren 12 yaşından büyük, şiddetli eozinofilik astım hastaları için alternatif bir yoldur. İki anti-IL-5 tedavisi kabul kolmuştur; mepolizumab ayda (100 mg) bir subkutan enjeksiyonla uygulanır, Reslizumab ayda bir (3mg/kg) intravenöz aşılama ile uygulanır (Garcia et al., 2013; GINA 2017) .

Yant etkisi nadirdir. Mepolizumab tedavisinde enjeksiyon bölgesinde reaksiyon oluşabilir, reslizumab tedavisinde ise kas ağrısı oluşma olasılığı vardır. Anafilatik reaksiyonlar iki tedavi içinde ender rastlanan bir durumdur (GINA 2017).

2.2.2.5 Semptom giderici ilaçlar

a) Kısa etkili inhale beta2-agonistler (SABA)

İnhaler kısa etkili beta2 agonistleri, akut astım alevlenmesinde oluşan bronkospazmı gidermek ve egzersiz ile indüklenen bronkokonstriksiyonun tedavi öncesi kullanılır. İnhaler kısa etkili beta2 agonistlere örnek salbutamol, terbutaline,

levalburerol, reproterol ve pirbuterol ilaçları verilebilir. Formoterol, uzun etkili beta2-agonisttir. Hızlı etkisi nedeniyle semptom rahatlaması için de onaylanmıştır. Genellikle inhaler steroidle düzenli bir tedavi altında olan astım hastalarında semptom giderici olarak kullanılabilir. Kısa etkili beta2 agonistleri, sadece düşük dozda ve gereken sıklıkta kullanılmalıdır. Kullanımının artması özellikle günlük kullanımdaki artış, astım kontrolünün kötüye gittiğinin bir göstergesidir ve tedavi yeniden düzenlenmesi gerekir (GINA 2017;Türk Toraks Derneği, 2016).

Kısa etkili beta2 agonistlerin ilk kullanımında tremor ve taşikardi en sık görülen yan etkileridir, fakat kısa sürede tolerans gelişir. Yüksek dozda kullanımı astıma bağlı ölüm riskini attırır (GINA 2017).

b) Kısa etkili antikolinergikler

Kısa etkili antikolinergikler bronkodilatörler olarak astım tedavisinde ipratropium bromür ve oxitropium bromür kullanılır. İnhaler ipratropium bromür, kısa etkili beta2 agonistlere kıyasla daha az etkili rahatlatıcı ilaçtır. Ipratropium bromürün uzun süreli astım tedavisinde yararlı belirlenememesine rağmen hızlı etkili beta2 agonistlerin taşikardi, aritmi ve tremor gibi yan etkilerine sahip hastalar için alternatif bronkodilatör olarak kullanılır. İnhaler ipratropium veya oxitropium bromür ağız kuruluğuna ve acı tada sebep alabilir (GINA 2017).

2.2.3 Astım ilaçların uygulama yolları

Akciğerler, binlerce yıldır ilaç uygulama yolu olarak kullanılmaktadır. İnhaler tedavinin kökeni, 4000 yıl önce öksürüğü bastırmak için *Atropa belladonna* bitkisinin yapraklarını içildiği Hindistan'a kadar dayanır. 19. yüzyılda ve 20. yüzyılın başlarında astımlılar, hastalıklarının semptomlarını tedavi etmek için tütünle karıştırılmış stramonyum tozu içeren astım sigaralarını içtikleri bilinmektedir (Grossman 1994). Geliştirilen modern inhalasyon cihazları üç farklı kategoriye ayrılır: nebülizör, nebülizörün geliştirilmişini ve iki kompakt taşınabilir ölçülü doz inhaler (ÖDİ) ve kuru doz inhalatörü (KDI).

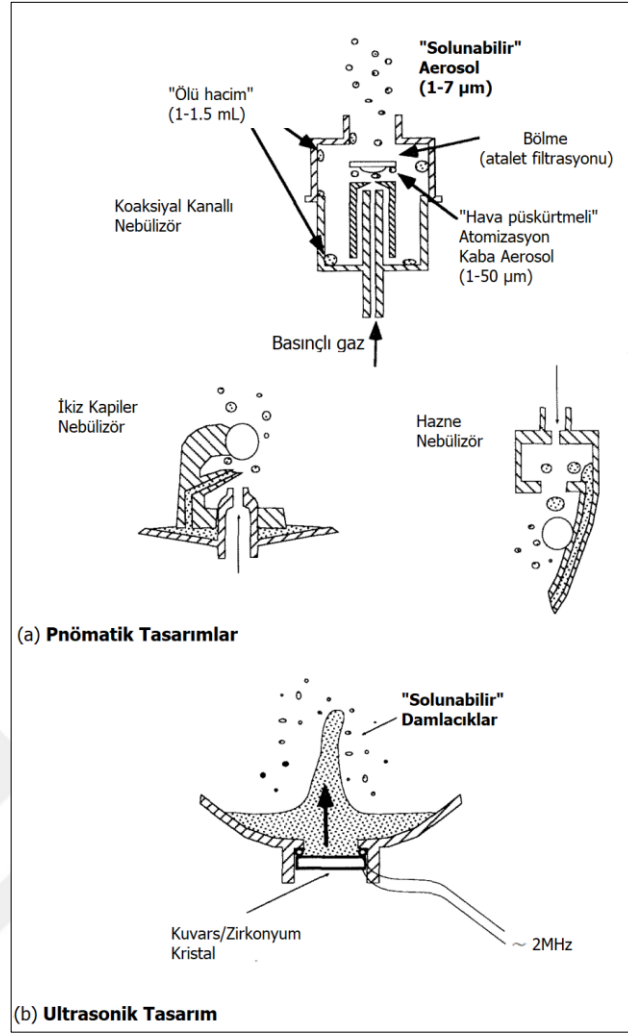
2.2.3.1 Nebülizör

Nebülizör, havayolu ilaç taşınımında kullanılan en eski cihazlardan biridir. Nebülizörler, sulu çözelti veya süspansiyonları atomize etmek için tasarlanmış cihazlardır. Nebülizörler, jet ve ultrasonik olmak üzere iki türü bulunur. Jet nebulizörlerinde ilaç çözeltisinin aerosolize etmek için basınçlı hava kullanılırken, ultrasonik nebulizörlerinde yüksek frekanslı ses dalgaları kullanılır (Clark 1995; Le Brun et al., 2000).

Jet (pnömatik) nebulizatör, basınçlı gazın (hava veya oksijen) bitişik sıvı besleme tüpünün çıkışında düşük basınç alanı yaratan dar bir delikten geçişini ifade eden Bernoulli prensibi ile çalışır. Bunun sonucunda, ilaç çözeltisi sıvı rezervuar bekletilir ve gaz akışıyla damlacıklara parçalanır (Labiris and Dolovich 2003; Clark 1995).

Ultrasonik nebulizörlerde ise nebulizör bölmesinden sıvı fiskeyi üretmek için yüksek frekansta titreşen (genellikle 1-3 MHz) piezoelektrik kristal kullanılır. Frekans ne kadar yüksek olursa, üretilen damlacıklar da o kadar küçük olur (Labiris and Dolovich 2003). Ultrasonik nebulizörler daha sesizdir ve genellikle jet nebulizörlerden daha küçüktür. Bu nedenle, elde kullanımları kolaydır ve hastalar tarafından daha çok tercih edilir. Ultrasonik nebulizatörlerin en önemli dezavantajları ise, pahalı ve zor taşınabilir olmalarıdır (Le Brun et al., 2000).

Yapılan çalışmalarda, nebulizörlerin yüksek polidispersiteye sahip, ultra ince damlacıklar ($\sim 1\mu\text{m}$) ürettikleri ve damlacık boyutundan daha büyük parçacıkların aerosolize olamadığı belirtilmiştir. Bu nedenle, nebulizörlerin akciğerlere büyük partiküllerin taşınımı için uygun olmayabilir (Bailey and Berkland 2009).



Şekil 2-8. Nebülizör dizaynları A) Jet nebülizör, B) Ultrasonik nebülizör (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Clark 1995)).

2.2.3.2 Ölçülü Doz İnhalerleri

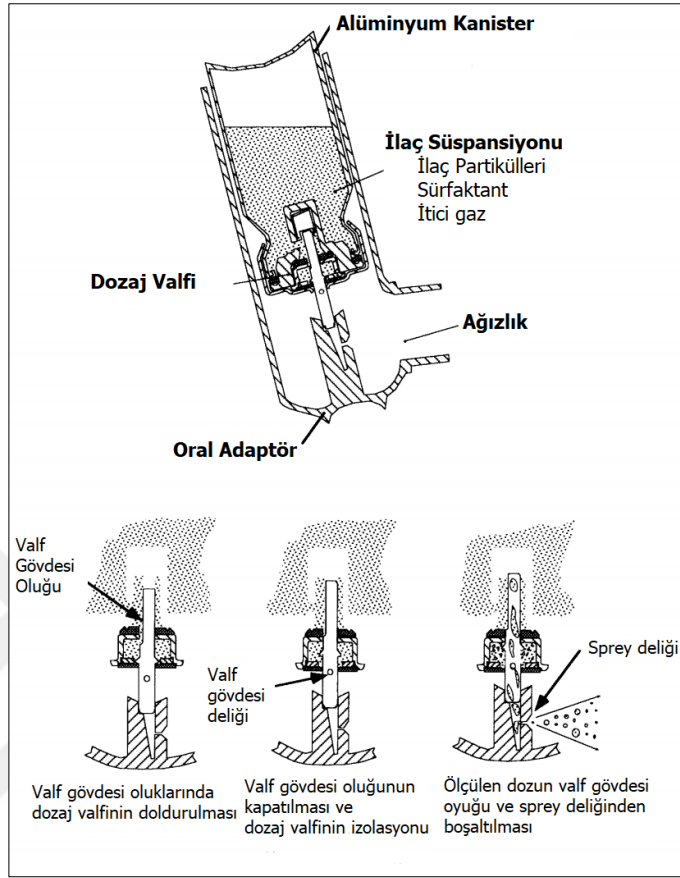
Ölçülü doz inhalerleri (ÖDİ), nebülizörlerle yaşanan problemlerin üstesinden gelmek için geliştirilen ilk portatif ayakta tedavi dilen hastalar için inhaler cihazdır. Günümüzde en yaygın kullanılan aerosol taşıyıcı cihazlardır. Ölçülü doz inhalerleri, ilaç aerosollerini itici gaz yardımı ile yayar. İtici gaz olarak kloroflorokarbonlar (CFC) ve son yıllarda hidrofloro alkanlar (HFA'lar) kullanılır. İtici gazlar, püskürtücü başlıktan yüksek hızda ilaç aerosollerini yayar ($> 30 \text{ ms}^{-1}$). ÖDİ'lerin ilaç dozunun sadece küçük bir kısmı akciğerlere taşınır. Genellikle yayılan dozun sadece %10-20'si akciğerde birikmektedir. Spreyin yüksek hızı ve büyük partikül ilaç aerosolün yaklaşık %50-80 boyutu ağız ve yutak bölgesinde impaksiyonuna neden olur. El-ağız koordinasyonundaki bozukluk ÖDİ'lerin optimal kullanımdaki başka bir engeldir (Labiris and Dolovich 2003).

ÖDİ'lerinde ilaç taşınım etkinliği hastanın solunum paternine, inspiratuvar akış hızına (IFR) ve el-ağız koordinasyonuna bağlıdır. Yapılan çalışmalarda, 1 ve 5 µm kütle medyan aerodinamik çapına (MMAD) sahip partiküllerin birikimi diğer değişkenlerden ziyade inspiratuvar akış hızına bağlı olduğunu belirtmektedir. Artan inspiratuvar akış hızı (IFR), toplam akciğer dozu birikimine ve periferik hava yollarına penetrasyonunun azalmasına neden olur. Hızlı inhalasyon periferik birikimin azalmasına sebep olur (Bennett and Smaldone 1987).

El-ağız koordinasyon gerekliliğini, “soğuk freon” etkisini (donma sıcaklığının altındaki sprey sıcaklığı bazı hastaların solunumun durmasına neden olur) ve partikül boyut dağılımını azaltarak ve aerosol hızını yavaşlatarak orofarinkste ilaç birikimini azaltmak için farklı türde spacer tüpleri, valf tutma hazneleri ve ağızlık uzantıları geliştirilmiştir. ÖDİ ve tutma haznesinden gelen aerosol tek başına ÖDİ'den gelene göre daha incedir ve orijinal aerosol ile karşılaştırıldığında kütle medyan aerodinamik çapında (MMAD) yaklaşık %25 bir azalma oluşur. Bu daha ince aerosol, periferik hava yolunda taşınımı arttığı için normal akciğerde daha homojen dağılır. Bununla birlikte, hava yolu hastalarda, ÖDİ'ye tutma haznesi eklenmesi aerosolün dağılımını değiştirmez (Labiris and Dolovich 2003).

Kloroflorokarbonlar (CFC), ozon tabakası üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle, Montreal Protokolü uyarınca Birleşmiş Milletler tarafından yasaklandı. Kloroflorokarbonlar itici gaz yerine hidrofloro alkanlar (HFA) özellikle HFA-134a ve HFA-227, uygun gazlar olarak tanımlandı. HFA ve CFC itici gazları farklı kimyasal ve fiziksel özelliğe sahiptir. HFA içeren ÖDİ'lerinin sprey sıcaklığı CFC içeren ÖDİ'lere kıyasla donma sıcaklığının üzerindedir, bu da CFC itici gazların neden olduğu “soğuk freon” etkisinin azaltmaktadır. Püskürtme kuvveti ve sprey hızı da azalır (Leach et. al., 1998). CFC içeren ÖDİ'lerin içerisinde süspansiyonların istenen fiziksel stabilitesini sağlamak, ilaç partiküllerinin agregasyonunu önlemek ve ölçme valfini kayganlaştırmak için sürfaktantlar kullanılmaktadır. HFA içerisinde sürfaktantların çözünürlüğü azalır. Bazı HFA formülasyonlarıyla etanol, yeni itici gazlarda sürfaktantların çözünürlüğünü arttırmak için kullanılır. Beklometazon dipropiyonat (BDP) gibi bazı steroidler, CFC içeren formülasyon gibi süspansiyonlara göre etanolde daha iyi çözünür. HFA

içeren ilaçlar süper ince partikül üretebilir ve akciğer periferinde daha fazla birikim sağlayabilir (Labiris and Dolovich 2003).



Şekil 2-9. Ölçülü doz inhalerlerin temel bileşenleri (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Clark 1995)).

2.2.3.3 Kuru doz inhalerleri

Kuru doz inhalerleri (KDİ), ÖDİ'lerin koordinasyon zorluklarını elimine etmek için tasarlanmıştır. CFC içeren ÖDİ'lerin yerini önerildiği için yeni geliştirilen bu taşıyıcı sistem büyük ilgi görmüştür. İlk olarak 1939 yılında Stuart (1939) ABD'de patentlediği kuru doz inhaleri olarak adlandırılabilen bir ürünü açıkladı. Stuart'ın patenti, inhale silikayı şelatlamak için alüminyum tozlarının solunmasını sağlayan bir cihaz olarak tanıtmıştır. Özellikle, solunan tozun neden olduğu silikozis hastası madenciler tarafından kullanılması amaçlanmıştır. Ancak bu cihaz hiçbir zaman ticarileşmedi ve solunan alüminyumun, solunan silikadan daha zararlı olduğunu ve patente ifade edilen cihazın nazal inhalasyon olduğu için akciğerlerde verimli taşıma sağlayamayacağı bilinmektedir. On yıl sonra, 1949

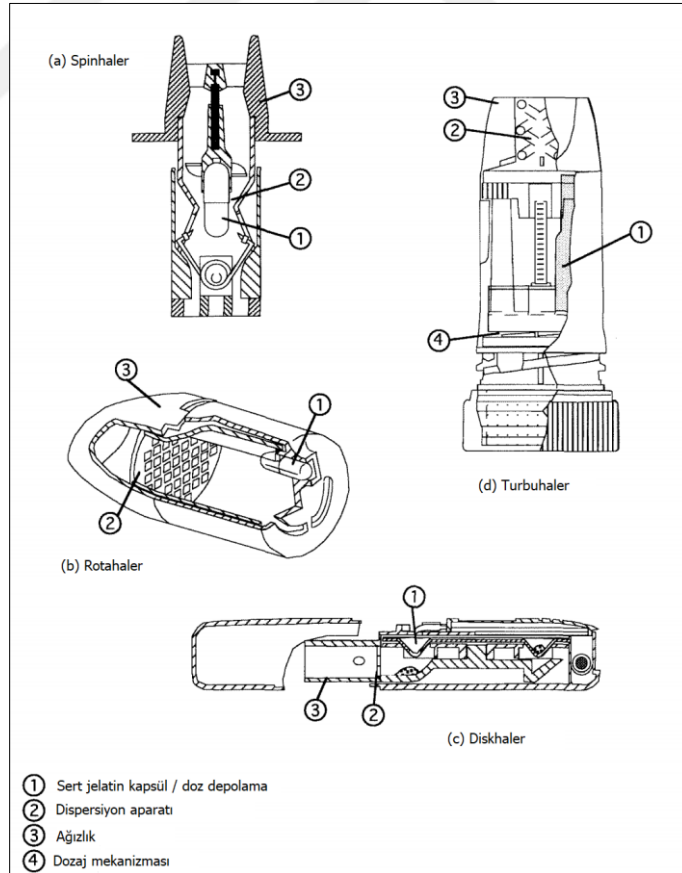
yılında Fields (1949) farmasötik ajanın uygulanması için kullanılacak ilk kuru toz inhalerinin patentini almıştır (Clark 1995).

Piyasada, tek dozlu cihazlardan (örn. Aerolizer, Rotahaler), bir blister paket içinde çok dozlu ilaç sağlayan cihazlara (örn, Diskhaler), inhaler boyunca hareket eden bir şerit üzerinde blister ile kapalı çoklu birim doz sağlayan cihazlar (örn. Diskus) veya rezervuar tipte (bulk power) sistemler (e.g.Turbuhaler) olmak üzere çok çeşitli kuru doz inhaler cihazlar bulunmanmaktadır (Labiris and Dolovich 2003) (Labiris and Dolovich 2003).

Kuru doz inhalerleri (KDİ), kesilerek-indüklenen aerosolizasyon yoluyla kuru bir toz ilacı veren, nefesle çalıştırılan cihazlardır. Bu nedenle, KDİ'lerden verilen gerçek doz, çoğunlukla nefes akış hızına bağlıdır. Akciğer birikimi farklı KDİ'lar arasında değişir. Yayılan dozun yaklaşık % 12 ila 40'ı akciğerlere verilir, ilacın % 20-25'i ise cihaz içerisinde alıkonulur. KDİ'lerde zayıf ilaç birikimine, iri taneli laktoz taşıyıcı partiküllerden veya ilaç peletlerinden ince ilaç partiküllerinin etkin bir şekilde dağılamamasından kaynaklanmaktadır. Yavaşça inspiratuvar akış hızı (IFR), yüksek nem ve hız, sıcaklıktaki ani büyük değişimler ilaç dağılımını ve bundan dolayı, KDİ'lerle pulmoner ilaç taşınımının verimliliğini etkilediği bilinmektedir (Bailey and Berkland 2009; Labiris and Dolovich 2003).

KDİ'lerinde ilaç aerosolleri, serbest tozların havada yönlenmesi ile oluşur. KDİ'lerlerinden çıkan partiküllerin çoğu, büyük toz yığınlarının ya da büyük taşıyıcı partiküllerin bulunması (örn., laktoz) nedeniyle akciğere penetrasyon için çok büyüktür. Toz parçacıklarının solunabilir partiküllere dağılması (dönüşmesi), toz kabında oluşturulan türbülanslı hava akımının oluşturulmasına bağlıdır. Türbülanslı hava akımı, agregatları alt hava yollarına kadar taşınabilecek kadar küçük partiküllere parçalanmasını sağlar, ayrıca ilacın taşıyıcı partikülden ayrılmasını sağlar. Her KDİ'ler gerekli inspiratuvar (soluk alma) eforunu yöneten farklı farklı bir hava akış direncine sahiptir. Cihazın direnci arttıkça, inhalerden maksimum dozu elde etmek için yeterince büyük bir inspiratuvar akış oluşturmak daha zordur. Ayrıca, yüksek dirençli inhalerler kullanılırken akciğerde birikme eğilimi artmaktadır (Labiris and Dolovich 2003).

KDİ teknolojisindeki son gelişmeler bu sorunların giderilmesine odaklanmıştır. Bir hastanın inspiratuar eforunun önemini azaltan aktif KDİ'leri araştırılmaktadır. Tozun dispersiyonuna yardımcı olan pille çalışan pervane ekleyerek (Spiros: Dura Pharmaceuticals, San Diego, CA, USA) ya da tozu aerosolize etmek ve bir tutma haznesinde duran bir bulut haline dönüştürmek için sıkıştırılmış hava kullanarak (Inhance Pulmonary Delivery System, Inhale Therapeutic Systems, San Carlos, CA, USA) solunabilir bir aerosolün üretimi hastanın inspiratuar eforundan bağımsız hale gelir. Bununla birlikte, günümüzde kullanımda olan KDİ'ler nefesle harekete geçirilmektedir ve solunabilir aralıkta bir aerosol elde etmek için hastanın 30-130 l dk⁻¹ IFR'sine bağımlıdır. Bu dezavantajlara rağmen, KDİ'leri aktivasyon ve inhalasyon koordinasyonu gerektirmediği ve sıvı iticilerin kullanılmadığı için, diğer inhalasyon tiplerine göre kullanımı daha kolaydır (Labiris and Dolovich 2003; Clark 1995; Bailey and Berkland 2009).



Şekil 2-10. Kuru doz inhalelerin gelişimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Clark 1995)).

Çizelge 2-2 İnhalasyon cihazların avantaj ve dezavantajları (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Labiris and Dolovich 2003)).

İnhalasyon Cihazları	Avantajları	Dezavantajları
Nebülizör (Jet, Ultrasonik)	• Belirli bir inhalasyon tekniği veya koordinasyonu gerekmez. • İlaç çözeltisinin çoğunun aerosol hale getirir. • Büyük dozda ilaç dağıtır. • Bebekler ve çok hasta ya da fiziksel olarak başka bir cihazları kullanamayan hastalar için uygundur.	• Zaman alıcı, hantaldır. • Taşınamaz. • Kontaminasyona açıktır. • Göreceli olarak pahalıdır • Taşınım verimliliği zayıftır. • İlaç israfı • Farklı modeller ve çalışma koşulları arasındaki geniş performans değişimi
Basınçlı Ölçülü Doz İnhalerleri (pÖDİ)	• Kompakt, taşınabilir • Çok dozlu (yaklaşım 200 doz) • Ucuz • Kapalı çevre (ilaç degradasyonu olmaz) • Tekrarlanabilir dozajlama	• İnhalasyon tekniği ve hasta koordinasyonu gereklidir. • Ağızda birikim yüksek • Maksimum doz 5 mg • Sınırlı sayıda ilaç kullanılabilir.
Kuru Doz İnhalerleri (KDİ)	• Kompakt, taşınabilir • Nefes ile çalışır • Kullanımı kolay • El-ağız koordinasyonu gerektirmez	• Solunum dozu inspiratuar akış hızına bağlıdır • Nem, tozların agregasyonuna ve kapsüllerin yumuşamasına neden olabilir. • Hasta yanlışlıkla KDİ içine nefes verirse doz kaybı olur. • KDİ'lerin çoğu laktoz içerir.

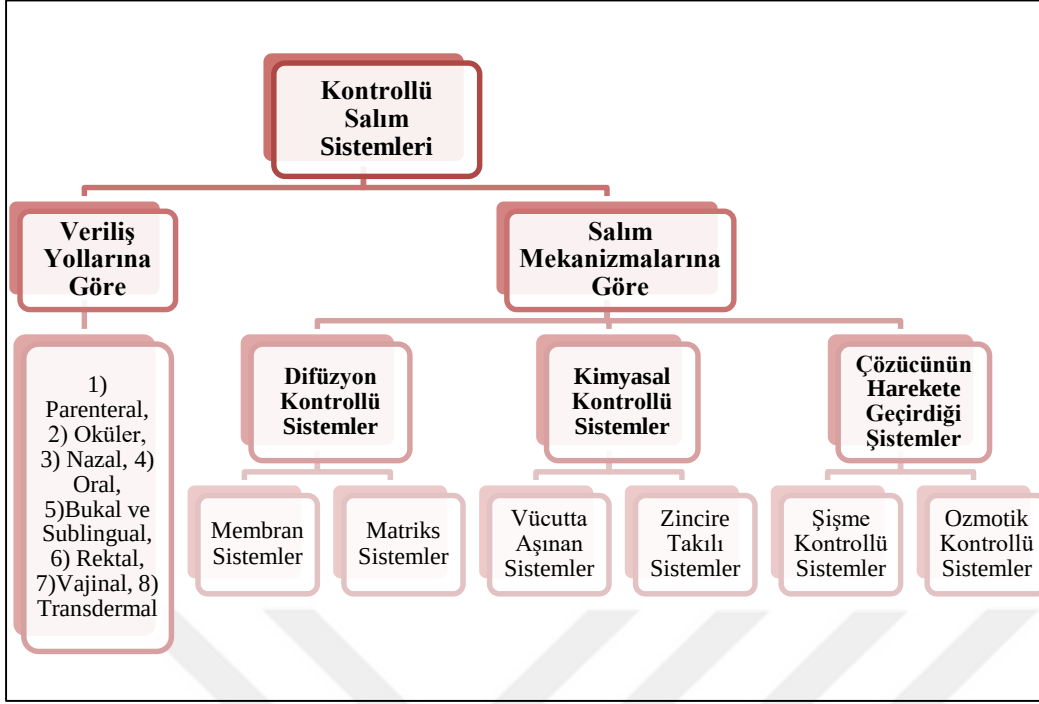
2.3 Kontrollü Salım Sistemleri

Kontrollü ilaç salım teknolojisi, birçok bilim dalının katkıda bulunduğu, çok hızlı ilerle gösteren bir alandır. Kontrollü salım sistemlerin amacı, kanda kararlı ilaç düzeyi ile tedaviye göre 24 saat ile 5 yıla kadar değişen uzun süreli salım gerçekleştirmektir (Uhrich et al., 1999; Brannon and Peppas, 1991). Kontrollü salım sistemlerin geleneksel yöntemlere kıyasla toksiteyi azaltması, etken maddenin plazma düzeyinin belirli bir süre sabit kalmasını sağlaması, etken maddenin istenilen doku veya organa hedeflenebilir olması, sık sık ilaç alımının ortadan kaldırması ile hasta uyumunu arttırması gibi birçok avantajı bulunmaktadır (Uhrich et al., 1999; Gürsoy 2002).

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin birçok avantajı yanında dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlardan en önemlileri ilaç taşıyıcı polimerik sistemin kendisi ya da parçalanma ürünü toksik etki yapabilir. İlaç taşıyıcı sistem vücuda verildiğinde istenildiği zaman ilaç salımı durduramayabilmek. İlaç taşıyıcı sistemlerin tasarımı ve sentezi maliyetli ve zaman alıcıdır. Her etken madde için ayrı taşıyıcı sistemin tasarlanması ve sentezlenmesi gerekmektedir (Gürsoy 2002).

2.3.1 Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması

Kontrollü salım sistemleri, ilaç salımı şekli ve uygulamalarına göre iki grup altında toplanır. Salım mekanizmalarına göre salım sistemleri difüzyon kontrollü sistemler, kimyasal kontrollü sistemler, çözücünün harekete geçirdiği sistemler olarak üç ana alt gruba ayrılır. Veriliş yollarına göre salım sistemleri ise parenteral, öküler, nazal, oral, bukal ve sublingual, rektal, vajinal, transdermal olmak üzere alt gruplara ayrılır (Gürsoy, 2002).



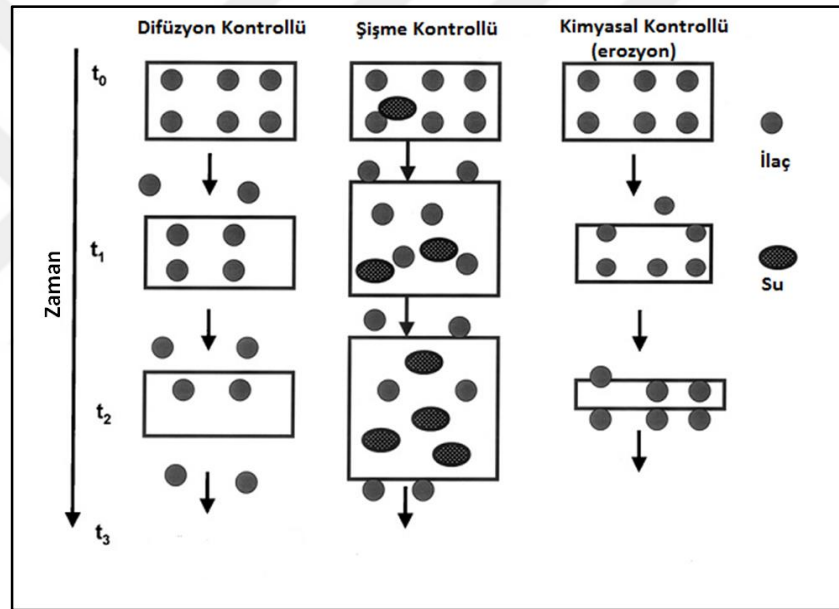
Şekil 2-11. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması

2.3.1.1 Salım mekanizmalarına göre salım sistemleri

Difüzyon kontrollü ilaç salım sistemleri en yaygın kullanılan ilaç salım mekanizmalarından biridir (Gürsoy, 2002; Lin and Metters, 2006). Bu sistemde ilaç bir rezervuarda (çekirdekte) enkapsüledir ve buradan polimer boyunca difüze olur. Genellikle sıfırıncı dereceden salım kinetiği ile salınır. İlaç etken maddesi suda çözünmeyen bir membran ile kaplanmış ise membran sistemleri denir. İlaç etken maddesi polimer matriksinde dağılmış ya da çözünmüş halde olan sistemlere ise matriks sistemleri denir (Bajpai et al., 2008; Gürsoy, 2002).

Kimyasal kontrollü ilaç salım sistemleri, ilaç etken maddesinin salımında oluşan kimyasal reaksiyonların etkin olduğu salım sistemleridir. En çok polimer zincirin hidrolitik veya enzimatik degradasyonu ile geri dönüşümlü ya da geri dönüşümsüz reaksiyonlarla ilaç salımı gerçekleşir. Aşınabilen ve zincire takılı sistemler olarak ikiye ayrılır. Aşınabilen sistemlerde polimerin bozunma hızı ile ilaç salımı kontrol edilir. Zincire takılı sistemlerde ise polimere kimyasal olarak bağlanan ilaç etken maddesinin salımı oluşan bağın hidrolitik veya enzimatik olarak kopması ile gerçekleşir (Lin and Metters, 2006; Peppas et al., 2000; Bajpai et al., 2008).

Çözücünün harekete geçirdiği ilaç salım sistemleri ise şişme kontrollü ve ozmatik kontrollü sistemler olarak ikiye ayrılır. Şişme kontrollü sistemler genellikle hidrojellerde görülür. Bu sistemde polimerin camsı durumdan kauçuğumsu duruma geçişi ve bu durumda oluşan gevşeme sonucu ilaç salımı gerçekleşir. İlaç polimerin camsı bölgesinden difüze olmaz, kauçuk fazında difüze olabilir. Bu nedenle ilaç salım hızı cam-kauçuk fazın oranına ve oluşum hızlarına bağlıdır (Gürsoy, 2002; Peppas et al., 2000). Ozmotik kontrollü ilaç salım sistemlerinde ise ilaç taşınımı osmotik basınç ile sağlanır. Yarı geçirgen bir membran ile çevrelenmiş ilaç rezervuarında ilaç salımı osmotik basınç farkı kontrol edilir (Fredenberg et al., 2011). Şekil 2-12’de salım mekanizmalarına göre kontrollü ilaç salım sistemlerin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 2-12. Salım mekanizmalarına göre kontrollü ilaç salım sistemlerin şematik gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Bajpai et al., 2008)).

2.3.1.2 Veriliş yoluna göre salım sistemleri

İlaçlar vücudun çeşitli bölgelerine uygulanabilir ve ilacın uygulama şekli ilacın terapötik etkisini etkileyen önemli bir etkidir. Oral yol en sık kullanılan yöntemdir. Oral yolla alınan ilaçlar ağız, mide, ince bağırsak, kalın bağırsaktan geçer ve bu bölgelerde salınabilir. Daha sonra karaciğerde ilk geçiş metabolizmasında ilaçların kimyasal parçalanması gerçekleşir. Karaciğerdeki ilk geçiş etkisi, mide asidesi, bağırsak motilitesi oral yolla ilaç kullanımının

dezavantaları olarak sayılabilir (Liechty et al., 2010; Peppas et al., 2000; Akhter et al., 2011). Oral yolla uygulanan ilaçların kimyasal yapıları korunamadıkları için son yıllarda alternatif ilaç uygulama yöntemi olarak parenteral yol dikkat çekmektedir. Karaciğerin ilk geçiş etkisini ortadan kaldırdığı, gastrointestinal kanalda parçalanmayı önlediği için tercih edilen bir yöntemdir. İlaç, direk intravenöz (damar içi), subkutan (deri altı) ya da intramuskuler (kas içi) olarak enjekte edilebilir (Kempe and Mäder, 2012; Liechty et al., 2010).

İlaç uygulamalarında parenteral uygulamaya alternatif bir yol, transdermal uygulamalardır. Özellikle deri yaralanmalarında dermatolojik ilaçların bölgesel olarak kullanılır. Parenteral yol gibi karaciğerde ilk geçiş etkisini ortadan kaldırır. İlaçlar plaster veya yama şeklinde göğüs, kol içi, kulak arası gibi bölgelere yapıştırılarak uygulanabilir (Roberge et al., 2000; Peppas et al., 2000).

Bölgesel uygulamalara başka bir örnekler ise oküler, nazal, bukkal, rektal ve vajinal uygulamalardır. Oküler uygulamalar, göz kırpması, kornea geçirgenliği gibi nedenlerden dolayı uygulama başarısı sınırlıdır. Gözde ilacın etki süresini uzatmak, ilacın yan etkilerini azaltmak ve istenilen biyoyararlanımı sağlamak için yeni oküler sistemler geliştirilmektedir (Gürsoy, 2002; Peppas et al., 2000). Nazal uygulamalar, sinüs hastalıklarında burun içine uygulanır. Karaciğerde ilk geçiş etkisini ortadan kaldırdığı için intravenöz yla yakın bir absorpsiyon profili sağlayabilir. Bukkal ilaç salımı ise sublingual (dil altı) ve bukkal (ağız içi) yol olarak iki farklı şekilde uygulanabilir. Ağız içi pH değerinde stabil olan ve asidik ortamda parçalanan ilaçlar için alternatif bir yoldur. Karaciğerin ilk geçiş etkisini ortadan kaldırır. Rektal uygulamalar ise oral yola alternatif olarak kullanılır. Özellikle hemoroid gibi hastalıklarda rektumda belirli bir bölgelerinin tedavisinde kullanılmakta olup kullanım alanları sınırlıdır. Vajina içi uygulamalarında, vajinanın yüzey alanının geniş ve damarlanmanın olması nedeniyle yüksek ilaç emilimi sağlar. Karaciğerin ilk geçiş etkisini elimine eder fakat vajinal akıntılar gibi fizyolojik nedenlerden dolayı kullanımı sınırlıdır (Gürsoy, 2002; Akhter et al., 2011; Morrow et al., 2011).

2.4 Pulmoner İlaç Salımı ve Kullanılan İlaç Taşıyıcı Sistemler

Akciğerler, ilaç salımı için mükemmel bir organdır. Akciğerlerin geniş yüzey alanı, ince epitelyum tabakası ve zengin kan içermesi hızlı ilaç adsorpsiyonu sağlar. Bu özellik sadece akciğer hastalıklarını tedavisi için değil aynı zamanda ilaçların sistemik uygulamaları için de olanak sağlar. Akciğerdeki metabolizma seviyesi gastrointerstinal yol ve karaciğer ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Bu nedenle ilaçlar direk akciğerden taşındığı zaman, büyük ölçüde metabolizmayı baypas eder (Van Rijt et al., 2014). Ayrıca, pulmoner ilaç taşınımı, solunum yolu hastalıkların tedavisi için bölgesel hedefleme sağlar ve sistemik ilaç taşınımı için giderek daha uygun bir seçenek olarak görülmektedir (Smola Et al., 2008).

İnhaler ilaçlar 50 yıldan beri popüler olmasına rağmen, formülasyonundaki zorluklar, yönetimi, dozajlama, uyum ve inhaler ilaçların stabilitesi gibi zorluklar klinik başarılarını engellemektedir (Van Rijt et al., 2014). Özellikle, mukosiliyer klirensi, makrofaj klirensi, sistemik absorpsiyon ve metabolik degradasyon dahil olmak üzere zorlu hava yolu temizleme mekanizmaları, kontrollü salım formülasyonlarının geliştirilmesindeki başlıca zorluklardır. Bununla birlikte, güncel akciğer-parçacık etkileşimleri bilgisini kullanarak, bu mekanizmaları önlemek için bazı yeni stratejiler geliştirilmiştir. Yenilikçi ilaç taşıyıcıları ile pulmoner kontrollü salınım artık imkânsız değildir (Liang et al., 2015).

İlaç formülasyonu, etkili inhaler ilaç tedavisinde önemli rol oynar. Sadece farmasotik olarak aktif bir ilaca sahip olmak önemli değildir, aynı zamanda ilacın akciğerin istenilen bölgesine etkin bir şekilde kalmalı ve istenilen farmakolojik etki gerçekleşene kadar akciğerde kalması gerekmektedir. Bu nedenle ilaç tasarımında, istenen süre boyunca akciğerlerde tutulan ve akciğerin temizleme mekanizmalarını önleyen bir formülasyona ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda, kuru doz formülasyonlarına yönelik çalışmalar giderek artmaktadır. İnhalasyon için kuru doz formülasyonları jet öğütme ile mikronizasyon, çöktürme, dondurma-kurutma, lipid, polimer ya da laktoz benzeri taşıyıcı sistemler gibi ekspiyanlar kullanarak sprey-kurutma yöntemlerini içerir. Formüle edilen terapötik maddeye bağlı olarak, her bir yöntem avantajları yanı sıra dezavantajlar da sunar (Labiris and Dolovich 2003).

2.4.1 Katı lipit nanopartiküller

1990'larda, katı lipit nanopartiküllerin (SLNs) ortaya çıkışı, pulmoner ilaç taşınımı için olağanüstü fizikokimyasal özelliklere sahip ümit verici bir ilaç taşıyıcısı olarak tanımlandı. Lipozomlara kıyasla, katı lipit nanopartiküller biyoyumludur ve nebulizasyon altında çok daha stabildir. Polimerik nanopartiküllere kıyasla, iyi bir güvenlik profili ile büyük ölçekte üretilebilir. Yani, katı lipit nanopartiküller in vivo stabiliteyi bozmadan lipozomun ve polimerik nanopartiküllerin güçlü noktalarını bir araya getirir (Liang et al., 2015).

Katı lipit nanopartiküller (SLN), potansiyel pulmoner ilaç taşınımını için son yıllarda yoğun olarak çalışılmaktadır. Katı lipit nanopartiküller, başlıca trigliserit ve fosfolipidler olmak üzere fizyolojik lipitlerden hazırlanan nano-boyutlu sulu süspansiyonlardır. Formülasyonunda fizyolojik bileşikler kullanıldığı için toksisiteyi düşüktür ve bunun sonucunda pulmoner ilaç taşınımı için daha çok kabul edilebilirdir. Fosfolipidler, akciğerin derinliklerinde her yerde bulunur ve solunum mekanizmasının işleyişi için gereklidir. Alveolar yüzeyde bulunan fosfolipit temelli sürfaktant proteinleri, optimum yüzey gerilimini korumak ve akciğer dokusunda sürtünmeyi azaltmak için gereklidir (Paranjpe and Müller-Goymanın, 2014).

Katı lipit nanopartikülleri, hem oda hem de vücut sıcaklıklarında katı lipitten oluşan stabil koloidal taşıyıcılardır. Bunlar, bir sürfaktan tarafından stabilize edilen ve çözünmüş veya dağılmış ilacı içeren bir katı lipid çekirdeğinden oluşur. Lipit çekirdeğin sertliği, ilaç salım oranını belirleyen önemli bir parametredir. Katı lipit nanopartiküllerin hazırlanmasında yer alan bileşiklerin çeşitliliğine rağmen, bunlar akciğerler tarafından iyi tolere edilir ve düşük toksisite taşıyıcıları olarak kabul edilir. Lipozomlarla karşılaştırıldığında, katı lipit nanopartikülleri fiziksel olarak daha stabil olma avantajını sunar (örneğin, nebulizasyon sırasında) (Loira-Pastoriza et al., 2014). Katı lipit nanopartiküllerin düşük toksisite ve fizyolojik fosfolipid bileşenlerinin kullanılması gibi avantajları göz önüne alındığında, yirmi yıldan da fazla popüler bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kalacağı düşünülmektedir (Paranjpe and Müller-Goymanın, 2014).

2.4.2 Lipozomlar

Lipozomlar, lipid çift tabakalarından oluşan yapay veziküllerdir ve hem hidrofilik hem de hidrofobik ilaçları enkapsüle edebilir. Lipid çift tabaka temel olarak fosfolipidlerden ve kolesterolden oluşur. Fosfolipidlerin polar baş ve hidrofilik kuyrukları lipid çift tabakanın oluşmasına izin verirken, kolesterol lipozom mebranı katılaştırır ve stabilize eder. Lipozomlardaki lipid yapısı ilaç salımını modüle eder. Örneğin, rijit fosfolipidler veya kolesterol, membran akışkanlığını azaltır ve ilaçların difüzyonu için daha az geçirgen bir membran oluşmasına yol açar. Lipozomlar pulmoner uygulamalar için özellikle uygun bir ilaç taşıyıcı araçtır, çünkü lipozomlar güvenilirdir ve akciğerler tarafından iyi tolere edilir. (Loira-Pastoriza et al., 2014; Kalepu and Nekkanti 2015).

Lipozomlar, doğal kaynaklardan gelen, akciğere endojen olan ve hiçbir yük ne negatif ne de pozitif yük taşımayan çeşitli fosfolipidlerden üretilebilir. Kolesterol içeren veya içermeyen, bir ya da daha fazla çift tabaka doğal veya sentetik lipidlerle çevrilidir. Tek lipid çift tabakalı küre (tek lamelli) veya çok tabakalı kesecik (multilameler) olarak bulunur. Çok çeşitli lipofilik özellikleri olan çeşitli ilaçlar enkapsüle edilebilir. Kortikosteroidler gibi lipofilik ilaçlar lipid çift tabakasının arasına ilave olurken, diğerleri çift tabakalı arayüzle etkileşime girer. Sodyum kromoglikat gibi hidrofilik ilaçlar sulu alanlara ayrılır. Orta seviyede çözünürlüğü olan ilaçlar lipozomlarda zayıf bir şekilde tutunur. Bununla birlikte ilaçların zayıf asit veya zayıf bazları olduğu zaman, içi sulu kompartmanların kimyasal bileşimi ve pH'ı, lipozomun iç kısmında ilaç konsantrasyonunu yüksek derece tutuklayabilecek şekilde ayarlanabilir (Labiris and Dolovich 2003).

Aerosol taşınım için lipozomal ilaç formülasyonlarının kullanılması uyumluluk, terapötik ilaç seviyelerini korumak için sürekli pulmoner salım ve özellikle alveolar makrofajlar için hücre içi taşınımının kolaylaştırması gibi birçok potansiyel avantajlara sahiptir. Ayrıca, ilaç-lipozomlar bölgesel tahrişe engel olur ve hem bölgesel hem de sistemik toksisiteyi azaltır. Azalan toksisite ile artan potansiyel birçok ilaç-lipozom formülasyonunda karakteristiktir. Lipozomal aerosollerin (Siklosporin A dahil) toksik olmadığı akut insan ve hayvan çalışmalarında kanıtlanmıştır. Bu sonuçlar, ilaç-lipozom aerosollerin suda çözünen

bileşeklerin tersine, suda çözünmeyen, hidrofobik, lipofilik bileşiklerin tutulumu, depozisyonu ve taşınmasında daha etkili olması gerektiğini göstermektedir. Hedeflenen ilaç-lipozomal aerosol tedavisinin amacı klirensi en aza indirirken, taşınma ve tutuklanmayı en üst düzeye çıkartmaktır (Smola et al., 2008).

Lipozomlar, alveolar makrofajlar için potansiyel hedefleyici ajanlar olarak da araştırılmıştır, çünkü makrofajlar akciğer surfaktan metabolizması ile ilişkilidir. Yapılan çalışmalar, ayrıca lipozomal nanopartiküllerin mannosilasyonunu ve partikül boyutu lipozomların makrofajlar tarafından tutulumu etkilediğini göstermiştir. Çalışmalarda, partikül boyutu 100-2000 nm'e arttıkça ve partikül yüzeyindeki mannosilasyon derecesi arttıkça lipozomal tutulum arttığını göstermektedir. Yazarlar, bunun muhtemelen mannoz reseptörlerinin sadece alveolar makrofajların yüzeyinde eksprese olmasından kaynaklandığını ileri sürmektedir (Bailey and Berkland 2008).

2.4.3 Miseller

Başarılı bir ilaç taşıyıcı sistemi, optimal ilaç yükleme ve salım özelliklerini, uzun raf ömrü ve düşük toksisite göstermesi gerekmektedir. Misel solisyonlar, vesiküller ve sıvı kristal dispersiyon gibi kolloidal sistemler yanı sıra 10–400 nm çapındaki küçük parçacıklardan oluşan nanopartikül dispersiyonlar pulmoner ilaç taşıyıcı sistemlerde taşıyıcı olarak büyük vaat vermektedir. İlaçlar bir misel çekirdeğinde tutulabilir ve gerçek suda çözünürlüklerinden bile daha yüksek konsantrasyonlarda taşınabilir. İçeriği etkili bir şekilde korumak için misel etrafında hidrofilik kabuk oluşur. Ayrıca, kabuğun dış kimyası retiküloendotel sistem tarafından tanınmayı ve dolayısıyla kan akışından erken eliminasyonu engelleyebilir. Miselleri çekici kılan bir başka özellik, boyutlarının ve şeklinin değiştirilebilir olmasıdır. Çapraz bağlı molekülleri kullanan kimyasal teknikler, misellerin stabilitesini ve geçici kontrollerini geliştirebilir. Miseller ayrıca, geniş çaptaki hasta bölgeleri seçici olarak hedeflemek için kimyasal olarak değiştirilebilir (Smola et al., 2008).

Miseller, amfifilik blok kopolimerler veya yüzey aktif ajanlardan oluşan kolloidal parçacıklardır. Genel olarak, partikül büyüklükleri 5-100 nm arasında

değişir. Sulu ortamda düşük konsantrasyonlarda amfifiller monomer olarak bulunur. Kritik misel konsantrasyonunun üstünde, monomerler hidrofobik bir çekirdek ve bir hidrofilik kabuk ile karakterize edilen miseller oluşturmak için kendi kendini bir araya getirirler. Miseller, misel çekirdekte çözülme meydana geldiği zaman, çözünürlüğü zayıf olan bileşiklerin taşıyıcıları olarak kullanılır. Hidrofobik ilaçların misellere yükleme etkinliği ağırlıkça %5 ile 25 arasında değişmektedir. Ayrıca miseller küçük boyutları ve hacimli hidrofilik dış kabuğu nedeniyle alveolar makrofajlar tarafından tutulmasını önleyebilir ve ilaç salımını uzatabilirler (Loira-Pastoriza et al., 2014).

Suda çözünmeyen ilaçlar, hidrofobik-hidrofobik etkileşimler nedeniyle hidrofobik çözücüler için genellikle fazla afiniteye sahiptir ve aynı zamanda misellerin hidrofobik bölgesi için afiniteye sahiptir. Bu nedenle, bu ilaçların miseller içinde kapsüllenmesi, bunların sulu taşıyıcıda formülasyonunu mümkün kılar. Başlangıçta, oral ve intravenöz uygulama için ilacı çözündürmek için hidrofilik sürfaktanlar kullanıldı. Bununla birlikte intravenöz uygulamalar sonrası sınırlı çözünme, daha yüksek kritik miseller konsantrasyon ve potansiyel yan etkileri uygulamalarını sınırlandırmıştır. Diğer taraftan, polimerik miceller çözünme kapasitesi, düşük kritik miçel konsantrasyonu ve büyük dayanıklılığı açısından büyük avantaja sahiptir. Polimerik miseller, PEG-PLA gibi ikili blok polimerler ya da PLA-PEG-PLA gibi üçlü blok polimerler kullanılarak oluşturulur. PEG genellikle misellerde polimerin hidrofobik bileşeni olur, poli laktik asit, poli aspartik asit, polikaprolaktik asit gibi bileşenler hidrofobik zinciri olabilir. Düşük kritik misel konsantrasyonu sayesinde polimerik miseller, vücut sıvılarıyla seyrelmesinden sonra düşük polimer konsantrasyonlarında stabil kalabilir. Polimerik misellerin nano boyutlu yapısı, gelişmiş permeasyon ve tutma etkisi ile tümör hedeflemesi için fırsat sağlar. Hidrofilik PEG yüzeyi, miselleri retiküloendotel süpürme için daha az duyarlı hale getirir ve böylece ilaçların dolaşım süresi daha uzun olur. Polimerik miseller ayrıca, spesifik dokularda ilaçların pH'ye duyarlı salımı ve hedefleme ligandları kullanılarak aktif hedefleme için de uyarlanabilir (Kalepu and Nekkanti 2015).

2.4.4 Dentrimerler

Dendrimerler, hiperdallanmış homopolimerlerin üç boyutlu yapılarıdır ve bir ağaç yapısı oluştururlar. Dentrimerler dört ana bölümden oluşur: bir başlatıcı çekirdek, iç tabaka veya tekrarlanan birimimler (çekirdeğe bağlanır), terminal yüzey grupları ve ilacın tutunabileceği boşluklar. Dentrimerler ayrıca, apolar çekirdek ve polar kabuktan oluştuğu için “ünimoleküler miseller” olarak da adlandırılır. Dentrimerler, dentrimerik boşluklar içinde enkapsülasyon ya da elektrostatik etkileşimler veya kovalent bağlarla dentrimer yüzeyine bağlanma gibi farklı mekanizmalarla ilaç taşıyıcısı olarak kullanılabilirler. Dentrimerler ilaçların yarı ömürlerini uzatır, ilaç çözünürlüğünü geliştirebilir ve biyolojik dokuları ilaç toksisitesinden koruyabilir. Ayrıca, dentrimerlerin yüzeyleri antikorlar ve ligantlar ekleyerek modifiye edilebilir ve belirli doku veya organlara daha spesifik hale getirilebilir (Loira-Pastoriza et al., 2014).

Dendrimerlerin inhalasyon yolu ile verilmesi, oral uygulamaya kıyasla metabolik stabiliteyi iyileştirebilir, invaziv olmayan bir yol ile taşınımı (not, dentrimerlerin oral biyolojik olarak kullanılabilirliği yetersizdir ya da hiç yoktur) sistemik erişimi destekleyebilir veya akciğerlerde ilaç salımı için uzun süreli bir depo sağlayabilir (Marasini et al., 2017).

2.4.5 PEGilasyon

PEGilasyon, bir ilacın vücutta kalma süresini uzatarak terapötik değerini geliştirilmek için kullanılan yaygın bir işlemdir. Yapının üzerine bir veya birden fazla PEG (polietilen glikol) zincirinin bağlanmasıyla oluşur ve proteinlere, peptidlere, partiküllere, küçük moleküllere ve hücrelere uygulanabilir. Çeşitli PEGlenmiş proteinler, enjeksiyon yoluyla klinik kullanım için onaylanmıştır. Polietilen glikol, geniş bir molekül ağırlığına sahip olan bir nötr doğrusal polieterdir. PEG zinciri boyunca tekrarlanan etilen kısmı hidrofobiklikten sorumlu iken, oksijen su ile güçlü etkileşimler sağlar. Bunun sonucu olarak, PEG hem sulu hemde organik ortamda çözünür. PEG'nin iki önemli özelliği, yüksek esnekliği ve omurgasının yüksek hidrasyonun olmasıdır. Karbon-karbon ve karbon-oksijen bağları, tüm polimere genişletilmiş bir esneklik sunarak, yaklaşan moleküllerin

büyük bir dışlanma hacmine yol açar. İki veya üç su molekülü, tekrarlayan monomer birimlerine bağlanır. Sonuç olarak, polimer eşdeğer moleküler ağırlığa sahip bir globüler proteininkinden beş ila on kat daha yüksek bir hidrodinamik hacme sahiptir. Polimerin büyük esnekliği ve hidrasyonu sterik engel oluşturur. Sterik engelleme, proteazları, antikorları ve opsoninleri ilacın çevresinden ayırır, böylece proteinlerin parçalanmasını ve partiküllerin fagositozunu azaltır. Ek olarak, PEGillenmiş bileşiğin artan hidrodinamik hacmi, böbreğin klirensini azaltır ve konjuge yapıların in vivo yarı ömürünün uzatılmasında katkıda bulunur. PEG güvenli, biyobozunur değildir ve küçük PEG'lerin inhalasyon yolu dahil olmak üzere çeşitli yollarda kullanmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır. PEG'lerin güvenliği, PEG'lerin gıdalarda, kozmetikte ve ilaçlarda kullanımı sağlamıştır (Loira-Pastoriza et al., 2014; Veronese and Pasut 2005).

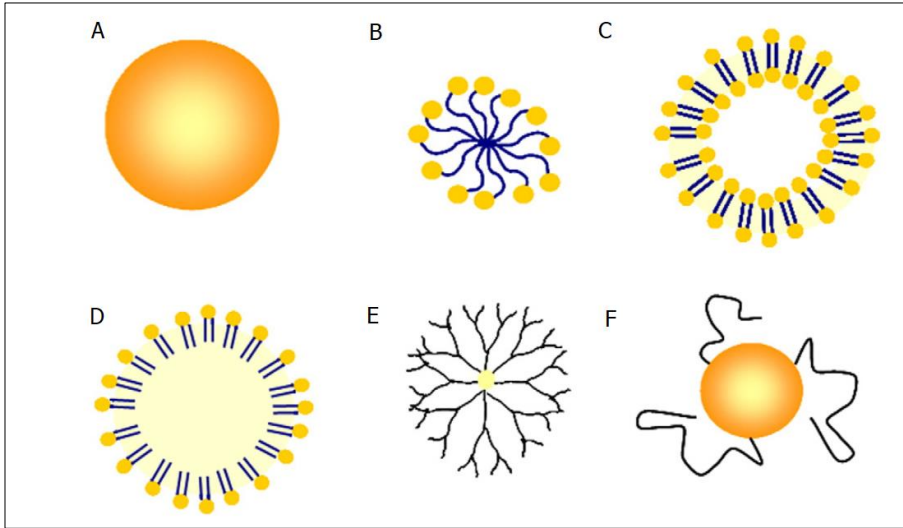
2.4.6 Polimerik nanopartiküller

Polimerler, pulmoner ilaç taşınımı için hızlı bir şekilde önem kazanmaktadır. Pulmoner uygulama için çeşitli polimerler araştırılmıştır. Polimerler; yüzey özelliklerinin modifiye edilmesini, yüksek miktarda ilacın enkapsüllemesini, ilacın bozulmaya karşı korunmasını, uzun süreli ilaç salımı ve uzun süreli bir raf ömrünün olmasını sağlaması gibi çeşitli avantajlara sahiptir. Terapötik amaç için, en yaygın kullanılan polimerler poli(laktik asit)(PLA), poli(laktik-co-glikolik asit)(PLGA), poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), aljinat, kitosan ve jelatindir (Paranjpe and Müller-Goymann 2014).

Polimerik nanopartiküller, ilaç alım sıklığını azalması, spesifik hücre ve organları hedefleme kapasitesinin yanı sıra alveolar makrofaj klirensinden kaçmak ve transepitelyal transportu kolaylaştırmak için uygun boyuta sahip olması gibi özellikleriyle pulmoner yolla kontrollü taşınımı sağlamak için avantajlıdır. Bununla birlikte, inhalasyon için tek başına nanopartiküllerin kullanılması tavsiye edilmez, çünkü düşük ataletleri nedeniyle akciğer derinliklerinde birikme yerine ekshalasyona eğilimlidirler (Liang et al., 2015). Buna karşılık, nanopartiküllerden oluşan sıvı damlacıklar, daha büyük doz bütünlüğü sağlar ve akciğerin derinliklerinde birikim için daha etkilidir. Ayrıca, mikropartiküllerle karşılaştırıldığında, nebulizatör fonksiyonu ve aerosol damlacık boyut üzerinde,

yakın-çözelti reolojisi nedeniyle daha az olumsuz etkiye sahiptirler (Liang et al., 2015).

Birçok çalışmada, polimerik nanopartikül formülasyon tekniklerini ve bunların pulmoner ilaç taşınım uygulamalarına uygunluğu incelenmiştir. Bu teknikler genellikle polielektrolit kompleks oluşumu, çift emülsiyon/çözücü buharlaştırma teknikleri veya emülsiyon polimerizasyon yöntemlerini içerir. Polielektrolit kompleks oluşumunda, bir polikasyon ve bir polianyon (genellikle su içinde) çözülür, daha sonra nanopartiküllerin oluşturmak için orta kesme hızı altında karıştırılır. Alternatif olarak, tek bir poliyonik malzeme zıt yüklü ilaç ile kompleks oluşturabilir ve daha sonra zıt yüklü, multivalent tuz ile jelleştirilir. Çift emülsiyon yöntemleri, tipik olarak organik bir çözücü içinde poli (laktik-co-glikolik asit) (PLGA) gibi bir polimeri çözülür, daha sonra sürfaktantlar içeren sulu çözücü içindende karıştırıcı ile emülsiyon haline getirilir. Organik çözücü daha sonra buharlaştırılarak, katı annopartiküllerin bir koloidal süspansiyonu bırakılır. Emülsiyon polimerizasyon yöntemleri, sulu bir sürfaktant içeren çözeltiye monomerin eklenmesini ve dağılan fazın polimerleşmesinin takiben karıştırılmanın uygulanmasını içerir (Bailey et al., 2009).



Şekil 2-13. A) Polimerik nanopartiküllerin, B) Misellerin, C) Lipozomların, D) Katı lipid nanopartiküllerin, E) Dendrimerlerin, F) PEGlenmiş konjugatların gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Loira-Pastoriza et al., 2014)).

2.5 Moleküler Baskılama Teknolojisi

Moleküler baskılama teknolojisi, doğal moleküler tanımayı taklit eden ilgi çekici bir sentetik yaklaşımdır. Moleküler baskılamanın temeli moleküler tanımaya dayanmaktadır. İlk kez 1894 yılında Fischer'in öne sürdüğü enzim-substrat ilişkisini açıklayan anahtar-kilit modeli ile moleküler tanımanın temeli atılmıştır. Bu modele göre enzimler, üzerlerinde substrat molekülünün şekline uygun ve substrat şeklini tamamlayan bölgelere sahiptir. Bir anahtarın açması için geometrik olarak tamamlası gerektiği gibi substrat molekülü de enzimin aktif bölgeleriyle etkileşir (Mosbach and Ramstrom, 1996; Ramstrom and Ansell 1998).

Son yıllarda büyük ilgi gören moleküler baskılama teknolojisi aslında yeni bir teknoloji de değildir. Bu alanda yapılan ilk çalışmalar 1930'lu yıllarda Sovyet kimyager M.V. Polyakov bir dizi silika jeli hazırlamış ve bir çözücü katkı maddesi varlığında hazırlanırken ortaya çıkan silikanın, o çözücü için tercih edilen bağlama kapasitesini gösterdiğini gözlemlemiştir. Polyakov bu çalışmaya 1950'lere kadar devam etmesine rağmen, bulguları nadiren Doğu Avrupa dışında atıf almıştır. Silika kullanan bir sonraki çalışma daha fazla etkiye sahip olmuştur. 1949'da Linus Pauling'in kıdemli öğrencisi Frank Dickey, boyaların varlığında silika jellerinin hazırlandığı deneylerin sonuçlarını yayımlamıştır. Dickey, desen boyasının çıkarılmasından sonra silika jel, aynı boyayı diğerlerine göre tercih edip yeniden aynı boyayı bağladığını gözlemlemiştir. Silika baskılama çalışmaları 1950'lerde ve 1960'larda devam etmiş, ancak bölgedeki yayın sayısı düşük kalmıştır. Bununla birlikte, 1972'de, Guenter Wulff grubu, moleküler olarak baskılanan bir organik polimer hazırladıklarını bildirmiştir. Wulff, gliserik asidin enantiyomerleri arasında ayırım yapabilen organik moleküler olarak basılmış bir polimer hazırlamak için şimdilerde "kovalent yaklaşım" olarak adlandırılan yöntemi geliştirmiştir (Selligren and Allender 2005; Whitcombe et al, 2013; Polyakov 1931; Dickey 1946; Wulff and Sarhan 1972).

Organik polimer baskılamada ikinci büyük kırılma 1981 yılında Mosbach ve Arshady'nin sadece kovalent olmayan etkileşimler kullanarak organik bir MIP hazırladıklarını bildirmesi ile meydana gelmiştir. Bu yaklaşıma "kovalent olmayan yaklaşım" olarak adlandırılmıştır. Bu yaklaşım, Wulff'un tercih ettiği kovalent

yaklaşımın aksine, 1990'larda meydana gelen moleküler baskıdaki patlamayı tetikleyen basit, görünüşte önemsiz bir metodolojiye dayanmaktadır. Bununla birlikte, kovalent olmayan yaklaşım hala MIP sentezinde en yaygın kullanılan yaklaşımdır (Sellergren and Allender 2005; Arshady and Mosbach 1981).

Moleküler baskılama yönteminde bir kalıp molekül (atom, iyon molekül veya kompleks makromolekül vb) etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya non-kovalent yaklaşımlarla katı destek malzemeler sentezlenir. Sonrasında kalıp molekülün yapıdan uzaklaştırılması ile kalıp moleküle özgü bölgeler oluşmaktadır (Chen et al., 2016, Lu et al., 2002; Yan and Ramstrom, 2005).

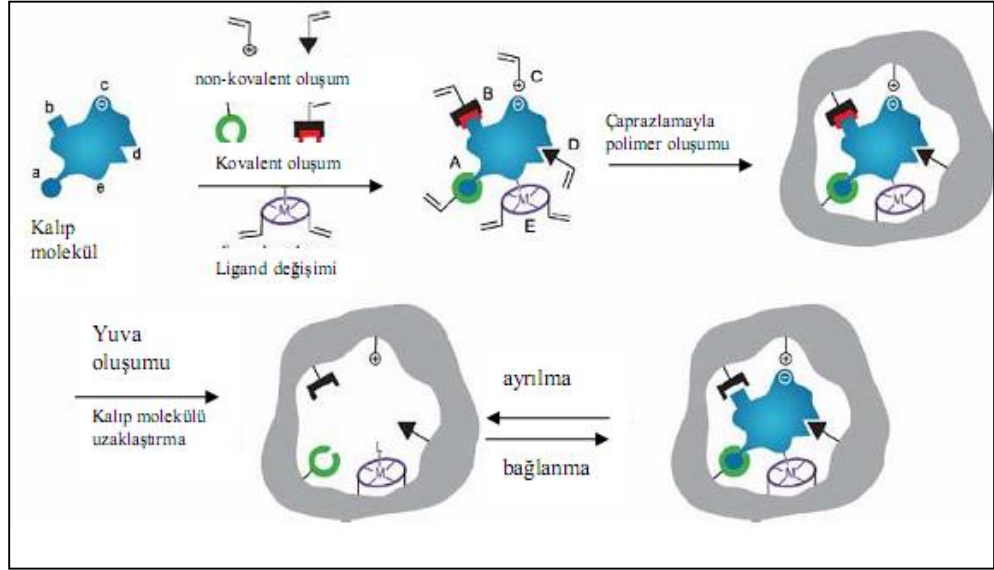
Diğer tanıma sistemleri ile kıyaslandığında yapı öngürülebilirliği tanıma özgülüğü ve uygulama evrenselliği olmak üzere üç ana benzersiz özelliğe sahip olan moleküler baskılanmış polimerler (MIP'ler); yüksek fiziksel stabilite, basit hazırlık, dikkat çekici sağlamlık ve düşük maliyet nedeniyle saflaştırma, ayırma, kimyasal/biyo tanıma, yapay antikolar, ilaç taşınımı, kataliz ve degradasyon gibi birçok alanda ilgi çekici hale gelmiştir (Chen et al., 2016).

Moleküler baskılama yöntemi temel olarak üç aşamada gerçekleşmektedir;

1. Ön kompleks oluşumu: Fonksiyonel grupları içeren polimerleşebilen uygun monomerler kalıp molekülle kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle bağlanarak bir kompleks yapı oluştururlar. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemli bir yer tutar.

2. Polimerizasyon: Monomer-kalıp kompleksi, uygun bir çapraz bağlayıcının da kullanılmasıyla fonksiyonel monomer üzerinden polimerizasyon gerçekleşir.

3. Kalıp (hedef) molekülün uzaklaştırılması: Sentezlenen polimerik yapıda molekülün bağlanabileceği boşlukların oluşması için kalıp molekül uygun ajanlara polimerden uzaklaştırılır. Oluşan bu boşluklar, kalıp molekülün yapısını, boyutunu ve fizikokimyasal özelliklerini tanımlar ve seçici olarak kalıp molekülü bağlar (Mayers and Whitcombe, 2005; Chen et al., 2016).



Şekil 2-14. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Alexander et al., 2006)).

2.5.1 Moleküler baskılama teknolojisinin kullanım alanları

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP) sağlam ve stabil olmalarının yanı sıra sentezlenmesi kolay ve ucuz olduğu için çeşitli endüstri uygulamaları için çok elverişlidir. MIP'lerin kullanım alanları arasında analitik kimya özellikle enantiyomerik ayırma, katı faz ekstraksiyonu, kataliz, yapay enzim, yapay antikor ve reseptör mimik uygulamaları, biyosensörler ve farmasötik uygulamalar yer almaktadır (Kryscio and Peppas 2009).

2.5.1.1 Kromatografik uygulamaları

Moleküler baskılanmış polimerlerin en kapsamlı ve en çok kullanılan uygulama alanı ayırma ve saflaştırma alanıdır. Amino asitler, ilaçlar ve karbonhidratlar gibi küçük moleküllerden proteinler gibi daha büyük biyomoleküllere kadar çok çeşitli kalıp molekülleri çeşitli polimerizasyon protokolleri ile hazırlanmış ve farklı kromatografik yöntemler kullanılarak ayrılmalar gerçekleştirilmektedir (Mosbach and Haupt 1998). Özellikle sıklıkla kullanılan ön-işlem uygulamalarının yerine MIP'lar; durağan faz olarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kapiler elektrokromatografisi (CEC), kapiler sıvı kromatografisi (CLC) ve ince tabaka kromatografisi (TLC) gibi farklı kromatografik türlerde hedef moleküle olan yüksek afinite ve seçicilikten dolayı

paketleme malzemesi veya monolit kolon materyali olarak kullanılmaktadır (Chen 2016).

Sıvı kromatografisinde özellikle enantiyomerlerin ayrılmasında büyük ilgi görmektedir. Geliştirilen farklı kiral durağan faz çeşitleri, enantiyomer ayırmasında yaşanan problemlere çözülmüştür. Optik olarak saf kalıp molekül ile hazırlanan MIP polimeri ile spesifik olarak kiral ayırma mümkün olmaktadır (Andersson 2000; Ramstro and Ansell 1998).

2.5.1.2 Antikor ve reseptör mimik uygulamaları

Moleküler olarak basılmış polimerlerin çok ilgi çekici bir uygulaması da antikorlar yerine immünolojik test tipi bağlanma çalışmalarıdır. Yapay antikorlar/reseptörler olarak kullanılmak üzere moleküler olarak basılmış polimerler, özellikle immünoassay benzeri teşhis tekniklerinde hızlı gelişim potansiyeline sahiptir. Moleküler baskılı polimerlerin fiziksel ve kimyasal direnci ile birlikte polimerlerin sterilize edilme olasılığı, düşük hazırlanma maliyeti ve konakçı hayvanlara duyulan ihtiyacın azaltılması, doğal antikor ve reseptörlere kıyasla baskılanmış polimerlerin belirgin avantajlarından biridir. İmmünolojik testlere ek olarak, tarama uygulamaları da gelecekte moleküler baskılanmış polimerlerin uygulama alanı olabilir. Kombinatorial kimya teknikleriyle birlikte bu tür polimerler, büyük bileşik kütüphanesinden hedef molekülün seçininde araç olarak kullanılabilir. Özellikle, tarama için istenen doğal bir reseptörün izole edilmesi zorsa, ilk tarama moleküler olarak baskılanmış reseptör taklitleri kullanılarak gerçekleştirilebilir (Ramstro and Ansell 1998).

2.5.1.3 Katı faz ekstraksiyonu uygulamaları

Moleküler baskılama yöntemi gıda, çevresel analiz ve medikal uygulamalarında kullanılabilmektedir. Genellikle bu yöntem, hedef analiti seçici bir şekilde zenginleştirmek için baskılanmış bir polimer ile katı faz ekstraksiyonu ile bir çözücü ekstraksiyonu aşaması içerir. Moleküler baskılanmış polimerler organik çözücülerde veya çoğu zaman sulu tamponlarda kullanıldığı için diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre avantaja sahiptir (Mosbach and Haupt 1998).

Klasik katı faz ekstraksiyon ve kromatografik yöntemler genellikle analitin ve durağan fazın genel fiziko-kimyasal özelliklerine dayanır, oysa MIP'ler bu klasik malzemelerin seçiciliğini aşabilir, çünkü adsorpsiyon MIP'ler, moleküller arasındaki daha ince yapısal farklılıklara dayanabilir. Seçicilik açısından, MIP'ler, katı bir desteğe kovalent olarak bağlanan antikörlerin kullanıldığı immünoafinite ekstraksiyon/ayırma ile karşılaştırılabilir. MIP'lerin en önemli avantajı, antikör bazlı ayırma ile karşılaştırıldığında arttırılmış sağlamlık ve malzemelerin düşük maliyetli olmasıdır (Nostrum 2005).

2.5.1.4 Biyosensör uygulamaları

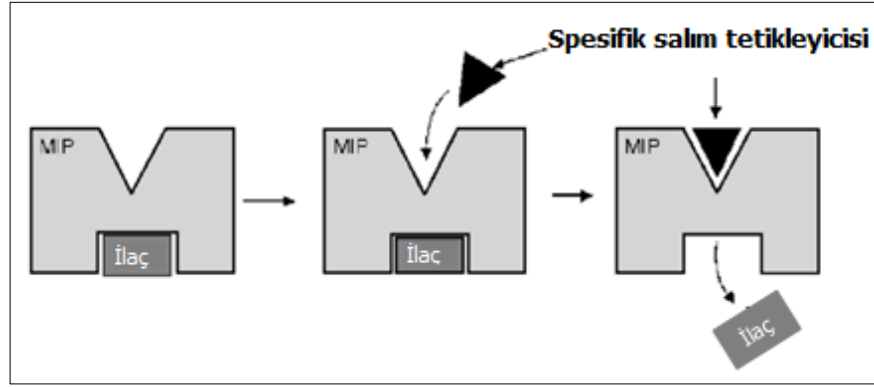
Moleküler baskılanmış polimerler biyosensörlerde genellikle tanıyıcı eleman olarak QCM sensörleri, elektrot tipi sensörler ve optik sensörler gibi bazı sensör teknolojilerinde kullanılmaktadır (Chen et al., 2011). Sensörlerde MIP'lerin spesifik algılama malzemeleri olarak kullanılması, yani MIP temelli sensörler Anderson ve arkadaşları tarafından (1988) tarafından “yüzey baskılama yöntemiyle” silikon yüzeyine K1 vitaminini baskılayarak optik yüzey elipsometrisi kullanılarak spesifik bağlanmasının izlenmesimiştir. Yüksek seçicilik ve stabilite, basitlik, maliyet etkinliği ve alanlardaki çok yönlülük nedeniyle klinik teşhis, çevresel kontrol, yiyecek analizi ve ilaç taraması gibi alanlarda önemli ilerleme kaydetmiştir. MIP-temelli sensörlerin karakteristik özelliği MIP'lar hem tanıma hem de transdüksiyon özelliğine sahiptir. Yani, tanıma elemanı olarak MIP'lar hedef analiti spesifik olarak bağlayabilir ve transdüksiyon elemanı olarak da tayin için output sinyal üretebilir. Genellikle transdüksiyon mekanizmalarına göre çıkış algılama sinyalleri elektrokimyasal, optik ve piezoelektrik tip olmak üzere üçe ayrılır. Dönüştürücü (transdücer) olarak sırasıyla elektrotlar, optik transponderler ve piezoelektrik kristalleri kullanılır. Genel olarak, analitik belirleme için, cevap süresi, doğrusal dinamik aralık, tespit edilebilirlik, hassasiyet, seçicilik ve tekrar üretilebilirlik gibi MIP-temelli sensörlerin ana parametrelerini göz önünde bulundurmak gerekir (Chen et al., 2016; Andersson et al., 1988).

2.5.1.5 İlaç salımı uygulamaları

İlaç salım sistemlerinde, uygulanan terapötik ajanın metabolik ataklardan korunması gerekir. İdeal ilaç taşıyıcılar, ilaçları doğru bölgeye, doğru dozda ve gereken süre içinde salması gerekir. Ayrıca taşıyıcı sistem vücutta zararsız bir şekilde elimine edilen toksik olmayan fragmentlere dönüşebilecek şekilde biyouyumlu veya biyobozunur olmalıdır. Polimerik malzemeler, uzun yıllardır implante edilebilen malzemeler olarak ilaç salımında kullanılmaktadır. Bu sistemlerde ilaç, terapötik maddeyi uzun bir süre boyunca veya belirli fizyolojik koşullar altında salıvermek için tasarlanmış bir polimer matrisi içinde dağılır (Cunliffe et al., 2005).

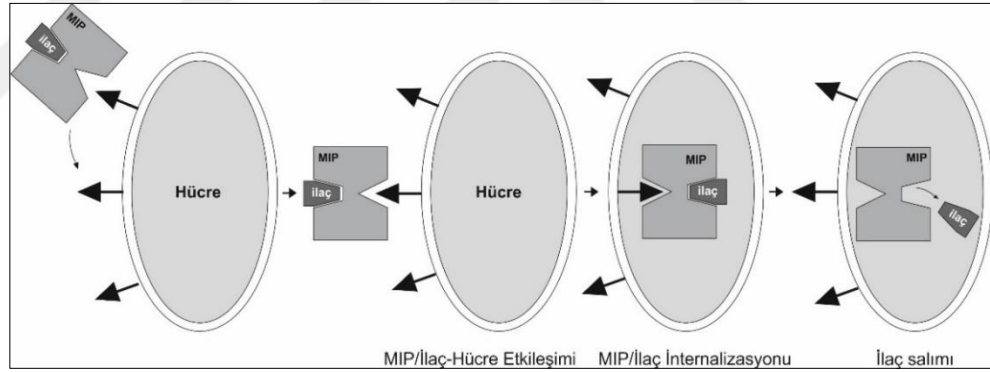
Katı polimerler veya hidrojel, kontrollü ilaç salımı için sıklıkla tercih edilen bir malzemelerdir. İlaç salımı difüzyon, matriksin bozulması veya ikisinin kombinasyonu ile yönetilebilir ve kontrol edilebilir. Bir ilacın polimer matriksinden salım profilini değiştirmek için ek araçlar tanımlamak için çalışılmaktadır ve moleküler baskılama yöntemi bu araçlardan biri olarak önerilmektedir (Nostrum 2005).

Moleküler basılanmış polimerler hedef ilaca belirli afinitesi olan, ilaç yükleme kapasitesini arttırmak için kullanılan polimerlerdir. Ayrıca moleküler baskılama etkisi, MIP'lerden uzun süreli ilaç salınması için kullanılmaktadır. İlaç salımı alanında gelişen teknoloji ile akıllı ilaç salımını mümkün hale gelmektedir. Akıllı ilaç salımı, terapötik bir maddenin başka bir molekülün varlığı gibi spesifik uyarıcılara cevap olarak salgılanması anlamına gelmektedir. İlaç hedeflemesinde en iyi hedefleme antikör veya bir peptid gibi ilaç ile konjuge edilmiş vektörler belirli etkileşim bölgeleri ile etkileşime girer. Buna örnek olarak bir hücre yüzeyi epitou verilebilir. Bu alanların her ekinde de moleküler baskılama çok gerçek bir potansiyele sahiptir. Akıllı kontrollü salım, bir ilacın yapısal olarak ilişkili bir çapraz reaksiyon maddesi tarafından rekabetçi bir şekilde yer değiştirmesi ile sağlanabilir. Bu doğrudan yer değiştirme türü, muhtemelen ikinci bir analite karşılık olarak bir salım profili oluşturmanın en basit yoludur ancak diğer allosterik benzeri olaylarda olasıdır (Nostrum 2005; Sellergren and Allender 2005).



Şekil 2-15. MIP taşıyıcılarından akıllı “allosterik” ilaç salımının şematik gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Sellergren and Allender 2005)).

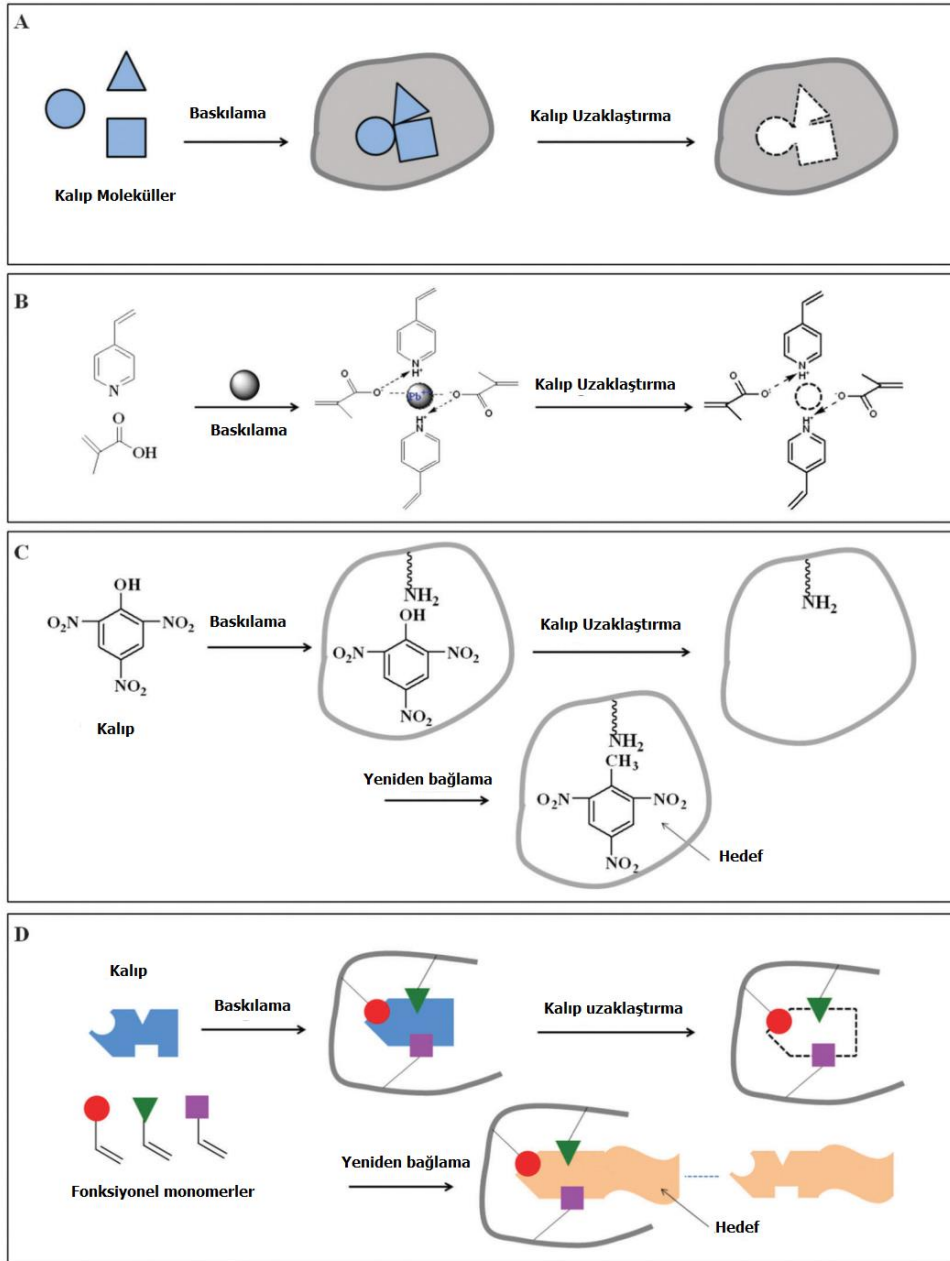
İlaç salımını hedeflemek için MIP'leri kullanmak heyecan verici bir kavramdır. MIP'ye kovalent veya kovalent olmayan şekilde bağlanmış olan ilaç, MIP, bir hücre yüzeyindeki hedefine bağlandığında serbest bırakılır. Bu olay, MIP'nin hücre yüzeyine bağlanması, MIP-ilac kompleksinin hücre içine alınması ve ardından ilaç salımının ortaya çıkmasına neden olacak şekilde genişletilebilir (Sellergren and Allender 2005).



Şekil 2-16. MIP kullanarak hedefli ilaç salımı ve kolaylaştırılmış internalizasyonun şematik gösterimi (Yayıncıdan izin alarak yeniden düzenlendi (Sellergren and Allender 2005)).

2.5.2 MIP için özel stratejiler

Moleküler baskılanmış polimerlerin geliştirme süreçlerinde gelişen teknolojinin yanı sıra çoklu kalıp baskılama (multi-templete imprinting), çok-fonksiyonel monomer baskılama (multi functional monomer imprinting), model baskılama (dummy imprinting) ve segment baskılama (segment imprinting) gibi stratejilerde geliştirilmiştir.



Şekil 2-17. a) Çoklu kalıp baskılamanın, b) çok-fonksiyonel monomer baskılamanın c) model baskılamanın d) segment baskılamanın şematik gösterimi (Chen et. al., 2016)

2.5.2.1 Çoklu kalıp baskılama stratejisi

Genellikle MIP'ların hazırlanmasında kalıp molekül olarak bir tane molekül veya iyon kullanılır. Ancak tek kalıplı MIP'lar, birden fazla kalıp molekülün eş zamanlı uzaklaştırılmasında ve tanınmasında MIP uygulamalarını kısıtlar. Aslında çoklu kalıp baskılamayla çeşitli hedeflerin/türlerin kalıp olarak kullanılmasıyla hazırlanan tek bir polimer malzemesiyle farklı türlerin ayrılması, ekstraksiyonu,

analizi, tayini aynı anda gerçekleşebilir, böylelikle MIP'lerin uygulama alanları büyük ölçüde genişletilebilir (Chen et al., 2016).

Birkaç bileşiğin bir sabit fazda aynı anda ayrılması, örneğin farmasötik formülasyonların analizinde; alternatif olarak, birden fazla kalıp molekülün bir MIP içeren bir dedektör biyolojik veya çevresel sistemlerde bir (veya daha fazla) olası kirleticiyi tespit edebilecektir. Ek olarak, çok-kalıplı MIP'ler aynı anda birden fazla hedef molekülü tanıyabilecek ve ortamda ayırabilecektir. Çoklu-kalıp baskılama tekniği ilk kez Sreenivasan and Sivakumar tarafından 1999 yılında ve Dickert ve ark. tarafından ise 2001 yılında “çift moleküler baskılama” yöntemi olarak yayımlanmıştır. Daha sonra birçok araştırma grubu tarafından çok-kalıp baskılanmış MIP örnekleri yayınlanmıştır. Son zamanlarda üç ve daha fazla kalıp molekülü içeren MIP'lerin geliştirildiği belirtilmektedir. Örneğin, Venkatesh ve ark. kalıp molekül olarak üç tür farmasötik kimyasal karışımından oluşan çoklu-kalıp içeren MIP sentezlediklerini belirtmişlerdir. Su saflaştırmasında ve atık su arıtımında geleneksel adsorbanlara kıyasla önemli yarar gösterdiğini, özellikle tek kullanımlık aktif karbon ile kıyaslandığında maliyeti azalttığını belirtmişlerdir (Chen et al., 2016; Sreenivasan and Sivakumar 1999; Dickert et al., 2001; Venkatesh et al., 2014).

Bu gibi çok kalıplı baskılama sistemleri, çoklu hedef analitlerin eşzamanlı tanınması, zenginleştirilmesi, belirlenmesi ve uzaklaştırılması için yüksek verimli büyük uygulama potansiyeli sağlayabilir. Bununla birlikte, çok-kalıplı MIP'lerin seçiciliği tek kalıp kullanılarak sentezlenen MIP'lara kıyasla daha düşük olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni olarak her kalıp için bağlanma bölgesi sayısının azalması neden olabilir. Aslında, çok kalıplı MIP'lerin baskılama etkisi, çoklu hedef kalıplar için baskılama performanslarının bir dengesidir (Chen et al., 2016).

2.5.2.2 Çoklu fonksiyonel monomer baskılama teknolojisi

Son zamanlarda, moleküler baskılamada kovalent olmayan yaklaşım en sık kullanılan yöntemdir. Bilindiği gibi, hedef kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki no-kovalent etkileşimler çok noktalı (multipoint) etkileşimlerle artırılabilir. Bu nedenle, kalıp molekülün farklı bölgelerinde tamamlayıcı olan iki

ya da daha fazla fonksiyonel monomer kombinasyonlarının kullanılması ve geliştirilmesi oldukça gerekli hale gelmiştir (Chen et al., 2016).

Moleküler baskılanmış polimerlerde iki farklı fonksiyonel monomerin ilk kullanımı Ramström ve ark. tarafından 1993 yılında bildirilmiştir. Daha sonra fonksiyonel monomer kombinasyonları ile hazırlanan MIP örnekleri farklı gruplar tarafından yayınlanmıştır. Örneğin, Haruki ve ark. fonksiyonel monomer olarak akrilamid, metakrilik asit ve 2-(dimetilamino) etil metakrilat kullanarak kimyasal olarak denatüre edilmiş lizozimin katlanmasını destekleyen doğal lizozime yönelik MIP'ler hazırlamışlardır. Kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler arasındaki kovalent olmayan etkileşimler nedeniyle yüksek yeniden katlanma verimi elde edilmiştir. Cai ve ark. metakrilik asit (MAA) ve 4-vinilpiridin (4-VP) ikili fonksiyonel monomerlerin sinerjisiyle iyonik etkileşimlere dayanan Pb^{2+} tanıma ve uzaklaştırma için yeni iyon baskılanmış polimer (IIP) sentezlemişlerdir. 4-VP kendiğilinden Pb^{2+} iyonlarıyla koordinasyon kompleksi oluşturabilir fakat burada fonksiyonu MAA için bir proton alıcısı olarak hareket etmesiyle daha fazla ilgilidir. Yani karboksilatın Şekil 2-16'da gösterildiği gibi Pb^{2+} iyonlarına bağlanmasını büyük ölçüde kolaylaştıran bir baz kullanarak proton soyutlaması ile karboksil grubunun daha iyi ayrışmasına yardımcı olabilir. Bu nedenle 4-VP ve MAA arasındaki sineji, Pb^{2+} iyonları için Pb-IIP'lerin adsorpsiyon etkinliği ve seçiciliğinin artırılmasında önemli bir rol oynamıştır (Chen et al., 2016; Cai et al., 2014, Ramström et al., 1993; Haruki et. al., 2007).

Aslında, çift/çoklu fonksiyonel monomerlerin MIP/IIP'lerin seçiciliğini arttırması için iyi bir seçimdir ve özellikle makromoleküllerin baskılanması için çeşitli analitleri baskılamak için etkili bir yoldur. Bununla birlikte, kolay değildir ve sürekli araştırma yapılması gerekir. Ticari olarak temin edilebilen çift/çok fonksiyonlu monomerlerin uygun şekilde seçilmesi ve uygun şekilde birleştirilmesi, yeni fonksiyonel monomerlerin detaylı olarak nasıl tasarlanması ve sentezlenmesi ve ayrıca ideal MIP/IIP hazırlanmasında sinerjik etkilerinin etkili bir şekilde kullanılması gerektiği gibi birçok yönden araştırma gerekmektedir (Chen et al., 2016).

2.5.2.3 Model baskılama stratejisi

Daha önceki çalışmalarda, MIP'ler katı faz ekstraksiyon sorbentleri olarak başarıyla kullanıldı. Bununla birlikte, baskılanmış moleküllerin iz miktarlarının MIP'lerden sızması, analizlerin doğruluğunu ve kesinliğini engellemiştir. Kalıp molekülün sızıntısı riskinden kaçınmak için, Andersson ve ark. ilk olarak kalıp molekül olarak gerçek hedef molekül yerine benzer yapısal analogunu kullanmışlardır. 2000 yılında Matsui ve ark. “model kalıp” kavramını önermişleridir. Son yıllarda model baskılama stratejisi, kalıp molekül olarak hedef bileşiklerin yapısal analog analitleri alternatif olarak sunan bir uygulamadır. İki ana koşul altında çaişılan ve giderek ilgi altan bir yöntemdir. Model baskılama yöntemi (1) orijinal kalıp molekülün çok pahalı olduğunda veya manipasyonu güvensiz olduğu zaman ve (2) orijinal kalıp molekül kolayca bozulabildiğinde veya hedef analitin polimerizasyon sırasında MIP sentezi için yeterli olmayan düşük çözünürlüğe sahip olduğu zaman tercih edilmelidir (Chen et al., 2016; Andersson et al., 1997; Matsui et al., 2000).

2.5.2.4 Segment baskılama stratejisi

Fragment (parça) baskılama da olarak adlandırılan segment baskılama, hedef moleküle benzer bir seçici tanıma kabiliyeti sağlayacak ve moleküler baskı uygulama aralığını genişletecek olan MIP'leri hazırlamak için hedef molekülün bir kısmi yapısını pseudo-kalıp olarak kullanılır. 2000 yılında Rachkov ve ark. epitop yaklaşımı ile MIP hazırlanması için büyük molekülün (antijeni temsil eden epitopu) temsil eden küçük bir parçasının (kalıp olarak) kullanımını önermişlerdir. Segment baskılama, çok tosik, pahalı bileşikler ve kolayca baskılanamayan biyolojik moleküllerin içeren birçok hedef molekül için MIP alanlarını genişletmektedir. Ayrıca, kalıp sızıntısı problemini de çözebilir. Model ve segment baskılama tekniklerinin birçok avantajı olduğu belirtilmelidir ancak uygun model ve segment/fragment kalıp moleküllerinin seçimi kolay değildir (Chen et al., 2016; Rachkov and Minoura 2000) .

3 MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Salmeterol ksinafoat (SAM) ve flutikazon propiyonat (FLU), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), etilenglikol dimetakrilat (EGDMA), potasyum persülfat (KPS), polivinil alkol (PVA), metanol ve diğer kimyasallar ise Sigma-Aldrich firmasından temin edildi.

3.2 Cihaz ve Sistemler

Çalışmada kullanılan laboratuvar cihazları sırasıyla verilmiştir: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC; Shimadzu SCL-10AVP), Hassas terazi (Denver Instrument, SI-234A), Etüv (Mettler) Manyetik karıştırıcı (IKA, RCT basic), Su banyosu (WiseBath), Fourier dönüşümlü kızıl ötesi spektroskopisi (FTIR) (Perkin Elmer 100 ATR-FTIR, Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Quanta 250 S FEG, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezi), Taramalı uç mikroskobu (SPM, BRUKER Dimension Edge with ScanAsyst, Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi), Zeta boyut ölçüm cihazı (Malvern Instruments Nanoseries Zeta Sizer, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü), Nükleer manyetik rezonans cihazı (JEOL GX-400 300 MHz NMR, Ege Üniversitesi).

3.3 Moleküler Baskılanmış Nanopartiküllerin Sentezi

Moleküler baskılanmış nanopartikül sentezinde astım ilaçlarının etken maddeleri olan Salmeterol ksinafoat (SAM) ve Flutikazon propiyonat (FLU) kalıp molekül olarak kullanıldı. Ön-kompleks oluşturmak için fonksiyonel monomer olarak yapısında alanin bulunan 2-metakriloilamido alanin (MAAL) ve histidin bulunan 2-metakriloilamido histidin (MAH) monomerleri tercih edildi.

3.3.1 Fonksiyonel monomer MAAL'ın sentezi ve karakterizasyonu

Fonksiyonel monomer 2-metakriloilamido alanin (MAAL) sentezi için literatürde belirtilen yöntem kullanıldı (Garipcan et al., 2001). İlk önce 5 g L-alanin ve 0,2 g NaNO₂ 30 mL K₂CO₃ sulu çözeltisinde (5 %, v/v) çözöldü. Bu çözelti 0°C'e soğutuldu. Sonra, 6 mL metakriloil klorür, azot atmosferi altında yavaşça bu çözeltiye dököldü ve ardından bu çözelti oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldı. Bu kimyasal reaksiyonun sonunda, 0,1 M HCl çözeltisi kullanarak bu çözeltinin pH'ı 3,0'e ayarlandı. Ardından bu çözelti kloroform ile ekstrakte edildi. Organik faz MgSO₄ ile kurutuldu ve evaporatörde buharlaştırıldı. Kalan çökelti (MAAL gibi) eter-siklohegzan karışımı ile kristalize edildi. MAAL' ın belli miktar etanolde çözölerek yoğunluğu hesaplandı.

Sentezlenen MAAL monomerinin molekül yapısı proton NMR ile karakterize edildi. Monomerin ¹H-NMR spektrumu, CDCl₃ içerisinde JEOL GX-400 300 MHz NMR cihazıyla alındı.

3.3.2 Fonksiyonel monomer MAH'ın sentezi ve karakterizasyonu

Fonksiyonel monomer 2-metakriloilamido histidin (MAH) sentezi için literatürde belirtilen yöntem kullanıldı (Uygun et al., 2013). İlk önce 5 g L-histidin metil ester dihidroklorit ve 0,2 g NaNO₂ 30 mL K₂CO₃ sulu çözeltisinde (5 %, v/v) çözöldü. Bu çözelti 0°C'e soğutuldu. Sonra, 4 mL metakriloil klorür, azot atmosferi altında yavaşça bu çözeltiye dököldü ve ardından bu çözelti oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda 2 saat karıştırıldı. Bu kimyasal reaksiyonun sonunda, 0,1 M HCl çözeltisi kullanarak bu çözeltinin pH'ı 7,0'e ayarlandı. Ardından bu çözelti etil asetat ile ekstrakte edildi. Sıvı fazı, evaporatörde buharlaştırıldı. Kalan çökelti etil alkol ve etil asetat ile kristalize edildi. MAH' ın belli miktar etanolde çözölerek yoğunluğu hesaplandı.

Sentezlenen MAH monomerinin molekül yapısı proton NMR ile karakterize edildi. Monomerin ¹H-NMR spektrumu, CDCl₃ içerisinde JEOL GX-400 300 MHz NMR cihazıyla alındı.

3.3.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezi

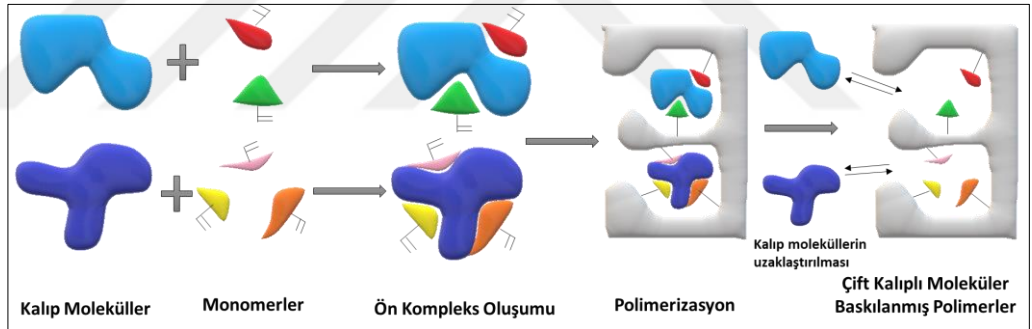
Salmeterol ksinafoat (SAM) ve flutikazon propiyonat (FLU) baskılanmış nanopartiküllerin sentezinde literatürde de belirtilen yöntem modifiye edilerek sürfaktansız emülsiyon polimerizasyonu yöntemi kullanıldı (Uygun et al., 2013; İnan et al., 2016). Polimerizasyon işlemi öncesinde kalıp molekül salmeterol ksinafoat (0,025 mmol; 15,09 mg) ve fonksiyonel monomer MAAL (0,1mmol;13,4µL) 500µL metanol içerisinde; diğer kalıp molekül olan flutikazon propiyonat (0,0143 mmol; 7,158 mg) ve fonksiyonel monomer MAH (0,1 mmol; 258µL) 1.5mL metanol içerisinde 2 saat karıştırılarak önkompleslerin oluşumu sağlandı. Polimerizasyon reaktörü içerisindeki 12,5 mL mL PVA (polivinil alkol) çözeltisi (11 mg/mL) üzerine HEMA (2-Hidroksietilmetakrilat; 274µL), EGDMA (Etilen glikol dimetakrilat; 150 µL), önkomples çözeltileri ve en son başlatıcı olarak kullanılan KPS (potasyum per sülfat; 0,44 mg/mL) çözeltisinden 22,5 mL reaktör içerisindeki karışıma eklendi. Ortamda bulunan ve polimerizasyon işlemi sırasında girişim yapabilecek oksijeni uzaklaştırmak için 1-2 dakika azot gazından geçirildi. Reaktör karıştırıcılı su banyosunda 70°C’de karıştırılmaya bırakıldı. 1 saat sonra polimer oluşumu gözlemlendi.

Sentez sonrası elde edilen nanopartiküller reaksiyona girmeyen maddelerin uzaklaştırılması için birkaç kez metanol ve distile su ile yıkama yapıldı. Her yıkamada nanopartikül çözeltisi 30000 g’de 20 dakika santrifüj edilerek nanopartiküller yıkama ortamından uzaklaştırıldı. Yıkama işleminden sonra kalıp molekül olan SAM ve FLU’u polimerik yapıdan uzaklaştırmak için metanol:asetik asit (4:1) karışımında (30 mL) 4 gün ve 1M NaCl:metanol (1:1) karışımında (30 mL) 3 gün bekletildi. Desorpsiyon ajanlarını uzaklaştırmak için bol su yıkama yapıldı. Yıkama sonrasında kalıp molekülleri uzaklaştırılmış nanopartiküller 35 mL distile su içerisinde tekrar dağıtılıp 4°C’de buzdolabında saklandı.



Şekil 3-1. Sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin fotoğrafı

Şekil 3-1’de sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentez sonrası fotoğrafı görülmektedir. Şekil 3-2’de ise çift kalıplı moleküler baskılanmış polimerlerin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 3-2. Çift kalıplı moleküler baskılanmış polimerlerin şematik gösterimi

3.4 SAM ve FLU Baskılanmış p(HME-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartikülün karakterizasyon çalışmalarında yapıya MAAL ve MAH monomerlerin katıldığı FTIR ile; nanopartiküllerin morfolojileri ve boyutu SEM ve SPM ile; nanopartiküllerin boyutu Zeta-Sizer ile belirlendi. Ayrıca MIP nanopartiküllerin kuru kütle tayini yapıp mL’deki polimer kütlesi g cinsinde hesaplandı. Bu veriler kullanılarak MIP nanopartiküllerin spesifik yüzey alanı hesaplandı.

3.4.1 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR (fourier transform infrared spektrofotometre) ölçümleri

Sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR spektrumları FTIR spektrofotometresi (Perkin Elmer 100 ATR-FTIR) kullanılarak elde edildi. MIP nanopartikülün yapısına MAAL ve MAH monomerlerin yapıya katıldığı belirlemek için aynı zamanda p(HEMA) nanopartikülün, p(HEMA-MAH) nanopartikülün, p(HEMA_MAAL) nanopartikülün ve NIP nanopartikülün de FTIR spektrumları çekilip karşılaştırıldı. Sentezlenen nanopartiküller etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutuldu. Ardından ATR-FTIR spektrumları alındı.

3.4.2 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM (taramalı elektron mikroskobu) fotoğrafları

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM fotoğrafları için İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsünde bulunan SEM cihazı (Quanta 250 S FEG) kullanıldı. Ultrasonik banyoda bekletilen MIP nanopartiküller lamel üzerine damlatılıp etüvde kurutuldu. İletkenliğini arttırmak amacı ile altın kaplama yapıldıktan sonra görüntüleri alındı. MIP nanopartiküllerin morfolojileri ve boyutları incelendi.

3.4.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM (taramalı uç mikroskobu) analizi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM analizleri Ege Üniversitesinde (EGE MATA) SPM cihazında (BRUKER Dimension Edge with ScanAsyst), tapping mode kullanılarak yapıldı. Analiz için ultrasonik banyoda bekletilen MIP nanopartiküller seyreltilerek lamel üzerine damlatılıp etüvde kurutuldu. MIP nanopartiküllerin morfolojileri ve boyutları incelendi.

3.4.4 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin zeta boyut analizi

Sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin boyut analizi Nano Zetasizer (NanoS, Malvern Instruments, Londra, İngiltere) ile analiz edildi. 1 mL seyreltik nanopartikül çözeltisi örnek haznesine enjekte edilerek analiz edildi.

3.4.5 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini için darası alınan eppendorf tüplerinin içerisine 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL v 0,6 mL nanopartikülden konuldu ve 45°C etüvde kurumaya bırakıldı. Sabit tartıma gelen eppendorf tüplerinin son kütleleri daralarından çıkartarak kuru nanopartikül kütlesi belirlendi. Kütle- hacim grafiği çizilerek birim hacim başına (mL) düşen g nanopartikül kütlesi hesaplandı.

3.4.6 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin spesifik yüzey alan hesabı

Sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerinin yüzey alanlarının hesaplanmasında 1 mL'deki nanopartikül sayısını veren aşağıdaki eşitlik kullanıldı (Bangs, 1987; Feyzioğlu Demir et al., 2018).

$$N = 6 \times 10^{10} \times S / \pi \times \rho_s \times d^3 \quad (1)$$

Burada N, 1 mL süspansiyondaki nanopartikül sayısını; S, % katıyı; d, çapı (µm); ρ_s , polimer yoğunluğunu (g/mL) ifade etmektedir.

Nanopartiküllere ait çizilen kütle-hacim standart grafiğinden yararlanılarak mL'deki mg nanopartikül miktarı teorik olarak belirlendi. Kürenin yüzey alanı eşitliği de kullanılıp, sentezlenen nanopartiküllerinin spesifik yüzey alanı m²/g cinsinden hesaplandı.

$$\text{Kürenin yüzey alanı} = 4 \times \pi \times r^2 \quad (2)$$

(π , 3,14; r, nanopartikül yarıçapı (m))

3.5 SAM ve FLU'ın Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi

SAM ve FLU'nun analizi Shimadzu SCL-10AVP HPLC Sisteminde, 250 x 4,6 mm C18 kolonu kullanılarak yapıldı. Adsorpsiyon ve ilaç salım çalışmalarında iki farklı yöntem kullanıldı.

Adsorpsiyon çalışmalarında HPLC analizi için Samir ve arkadaşlarının kullandıkları (2012) yöntem modifiye edildi. Mobil faz olarak Metanol: Asetonitril (70:30) kullanıldı. Akış hızı 1.0 mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 228 nm dalga boyunda analiz edildi. Kalibrasyon grafiği 2,5-50 ppm aralığında hazırlandı.

İlaç salım çalışmalarında ise SAM ve FLU'yı HPLC'de analiz etmek için Ammar ve arkadaşlarının (2017) kullandıkları yöntem modifiye edildi. Mobil faz olarak Asetonitril:20 mM fosfat tamponu pH 6,2 (70:30 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı 1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 228 nm dalga boyunda analiz edildi. Tüm HPLC analizlerinde mobil faz kullanılmadan önce ultrasonik banyoda degaz edildi. Kalibrasyon grafiği 2,5-50 ppm aralığında hazırlandı.

3.6 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllere SAM ve FLU Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat adsorpsiyonunda zamanın, sıcaklığın ve başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi incelendi. Adsorpsiyon çalışmalarında kullanılan SAM ve FLU çözeltisi metanol içerisinde hazırlandı. Denemeler sonunda yapılan HPLC analizlerine göre adsorpsiyon kapasiteleri (Q); g nanopartikül başına adsorplanan mg SAM ve FLU miktarı ayrı ayrı hesaplandı. Bunun için aşağıda verilen eşitlik kullanıldı;

$$Q = \frac{(C_{başlangıç} - C_{son})(mg/L) \times V_{ortam} (ml)}{Kuru Nanopartikül kütlesi (mg) \times 10^{-3}} \quad (3)$$

Q: gram nanopartikül başına adsorplanan SAM ve FLU miktarı (mg),
 $C_{\text{başlangıç}}$: Başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonları, C_{son} : Adsorpsiyon sonunda belirlenen SAM ve FLU konsantrasyonları)

3.6.1 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında zamanın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda zamanın etkisini incelemek için metanol içerisinde, 100 ppm SAM ve 100 ppm FLU içeren bir çözelti hazırlandı. Eppendorf tüplerine 50 μ L nanopartikül ve 450 μ L SAM ve FLU çözeltisi eklenip oda sıcaklığında açılı karıştırıcıda karıştırıldı. Sırasıyla 5.-15.-30.-45.-60. ve 120. dakikalarda örnekler alındı. Süre sonlarında eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC'de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.

3.6.1.1 Adsorpsiyon kinetiği

Bileşiklerin sulu çözeltiden doğal materyallere adsorpsiyonu, adsorban yüzeyinin heterojenliğinden dolayı karmaşık bir işlemdir. Adsorbatın kalma süresi, katı-sıvı arayüzündeki adsorpsiyon hızının etkisinden dolayı, adsorpsiyon hızı için önemli bir faktördür. Kinetik analiz ayrıca, adsorpsiyon proseslerin kimyasal reaksiyon, kütle transferi ve difüzyon kontrolü gibi mekanizmalarının andınlatılmasında yardımcı olur (Kayranlı 2011).

Bu amaçla, SAM ve FLU'nun adsorpsiyon kinetiğini tanımlamak için yalancı birinci mertebe kinetik model, yalancı ikinci mertebe kinetik model ve Elovich eşitliği kullanıldı.

Lagergren ve Svenska tarafından önerilen yalancı birinci mertebe kinetik model, sıvı-faz sistemlerin adsorpsiyon hızının tanımlanmasında kullanılan ilk eşitliktir. Birçok adsorpsiyon prosesinde, yalancı birinci mertebe kinetik model sadece ilk 20 ya da 30 dakikadaki etkileşim için uygun olduğu ve tüm adsorpsiyon (temas süresi) için uygun olmadığı bulunmuştur. k_1 değeri adsorbatın başlangıç konsantrasyon değerine bağlıdır ve bir sistemden diğerinde farklılık gösterir.

Genellikle, başlangınç adsorpsiyon konsantrasyon değeri artıkça k_1 değeri azalır (Gupta and Bhattacharyya 2011).

Lagergren ve Svenska tarafından (1898) önerilen yalancı birinci mertebe kinetik model ilk geliştirilen kinetik modeldir. Yalancı birinci derece kinetik model aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$dq_t / dt = k_1 (q_e - q_t) \quad (4)$$

k_1 , yalancı birinci mertebe adsorpsiyon hız sabiti (saat-1); q_e (mg/g) ve q_t (mg/g) sırasıyla dengede ve t zamanında adsorplanan madde miktarıdır.

Bu eşitliğin integrali alındığında;

$$\ln (q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (4,1)$$

t 'ye karşı $\ln(q_e - q_t)$ karşı grafiğe geçirildiği zaman, eğim k_1 'i; y eksenini kesim noktası ise $\ln q_e$ 'i ifade eder.

Yalancı ikinci mertebe kinetik modelle göre adsorpsiyon hızı adsorbantın konsantrasyonundan bağımsız olup adsorbent adsorpsiyon kapasitesine ve zamana bağlı olduğunu ifade eder (Erkurt ve Balcı 2015). Aynı zamanda bu modelde, adsorbent-adsorbant arasında kemisorpsiyon olduğun varsayılır (Kayranlı 2011). Yalancı ikinci mertebe kinetik modelde adsorbant konsantrasyonu zaman içinde sabit kaldığı ve toplam bağlanma bölgesi dengede adsorbe edilen adsorbant miktarına bağlı olduğu varsayımı yapıldığı için Langmuir kinetiklerinin özel bir türü olarak yorumlanır. Yalancı ikinci mertebe kinetik modelin bir avantajı da q_e değereinin belirlenmesinde, rastgele deneysel hatalardan etkilenmesi daha azdır (Gupta and Bhattacharyya 2011).

Ho ve Mckay tarafından önerilen (1998) yalancı ikinci mertebe kinetik modeli ise aşağıdaki gibi ifade edilir;

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \left(\frac{1}{q_e}\right) t \quad (5)$$

k_2 (g/mg.h) yalancı ikinci mertebe hız sabiti, q_e (mg/g) ve q_t (mg/g) sırasıyla dengede ve t zamanında adsorplanan madde miktarıdır. t/q_t 'ye karşı t grafi çizildiği zaman, grafiğin eğimi $1/q_e$ 'i; y eksenini kestiği nokta ise $1/k^2q_e^2$ i ifade eder.

Elovich eşitliğinde, adsorbentin heterojen aktif bölgelerinin olduğu ve adsorpsiyon sırasında farklı aktivasyon enerjilerinin olduğu varsayılır (Kayranli 2011). Yüzeyin heterojen enerjetik etkisi, gaz/katı sisteminde adsorpsiyon üzerindeki etkisi önemli olduğu bilinmesine rağmen sıvı/katı sistemde adsorpsiyon üzerindeki etkisi bilinmemektedir (Gupta and Bhattacharyya 2011).

Elovich eşitliği aşağıdaki eşitlikle ifade edilir (Keleş et al 2015);

$$q_t = \left(\frac{1}{\beta}\right) \ln(\alpha\beta) + \left(\frac{1}{\beta}\right) \ln t \quad (6)$$

Elovich katsayıları α , başlangıç adsorpsiyon hızını (mg/g.h) ve β ise desorpsiyon katsayısını (g/mg) ifade eder. q_t 'e karşı $\ln t$ grafiği çizildiği zaman grafiğin eğimi $1/\beta$; y eksenini kestiği nokta ise $(1/\beta)\ln(\alpha\beta)$ i ifade eder.

3.6.2 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda başlangıç ilaç konsantrasyonunun etkisini incelemek için 50 ppm; 100 ppm; 200 ppm; 400 ppm; 600 ppm; 800 ppm; 1000 ppm; 1500 ppm; 2000 ppm SAM ve FLU içeren ilaç çözeltileri metanol içerisinde hazırlandı. Eppendorf tüplerine 50 μ L nanopartikül ve 450 μ L SAM ve FLU çözeltilerinden eklenip oda sıcaklığında (25°C) açılı karıştırıcıda 45 dakika karıştırıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC'de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.

SAM ve FLU baskılanmış nanopartikülün (MIP) ilaçlara olan spesifikliğini araştırmak için baskılanmamış nanopartikülle (NIP) de aynı koşullarda adsorpsiyon denemesi gerçekleştirildi.

3.6.2.1 Adsorpsiyon izotermeleri

Adsorpsiyon izotermeleri, adsorpsiyon dengeye geldiği zaman, adsorbat molekülün sıvı ve katı faz arasında nasıl bir dağılım gösterdiği hakkında bilgi verir. Adsorpsiyon sisteminin tanımlanmasında, adsorpsiyon izotermeleri olarak sık kullanılan Langmuir, Freundlich, Temkin ve Dubinin-Radushkevich (DR) izotermeleri kullanıldı.

Langmuir izoterminde, adsorpsiyonun tek tabakalı ve yüzeyde belirli bir sayıda olan enerjisel olarak eşdeğer ve aynı olan adsorpsiyon bölgelerinde adsorpsiyonun gerçekleştiği varsayılır. Langmuir izotermi aşağıdaki eşitlikle ifade edilir (Langmuir 1918);

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (7)$$

Eşitlikte K_L , Langmuir sabiti (L/mg), q_m , maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg/g), q_e , denge anında g nanopartikül başına adsorplanan madde miktarı (mg/g), C_e , denge anındaki etken madde konsantrasyonu (mg/L) ifade eder. Bu eşitlik dört farklı şekilde lineer formda ifade edilebilir (Kayranlı 2011). Langmuir Tip (I);

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m K_L} + \frac{C_e}{q_m} \quad (7,1)$$

Eşitli ile ifade edilir. C_e/q_e 'e karşı C_e grafiği çizildiği zaman grafiğin eğimi $1/q_m$, y eksenini kesim noktası ise $1/q_m K_L$ değerini verir.

Langmuir Tip (II) eşitliği ise;

$$\frac{1}{q_e} = \left(\frac{1}{q_m K_L} \right) \frac{1}{C_e} + \frac{1}{q_m} \quad (7,2)$$

Eşitliği ile ifade edilir. $1/q_e$ karşı $1/C_e$ grafik çizildiğinde grafiğin eğimi $1/(q_m K_L)$ değerini, doğrunun y ekseninin kestiği nokta ise $1/q_m$ değerini verir.

Langmuir Tip (III) eşitliği;

$$q_e = q_m - \left(\frac{1}{K_L} \right) \frac{q_e}{C_e} \quad (7,3)$$

Eşitliği ile ifade edilir. q_e 'e karşı q_e/C_e grafik çizildiği zaman grafiğin eğimi $-1/K_L$ değerini, doğrunun y eksenini kestiği nokta ise q_m değerini verir.

Langmuir Tip (IV) eşitliği ise,

$$\frac{q_e}{C_e} = K_L q_m - K_L q_e \quad (7,4)$$

Eşitliği ile ifade edilir. q_e/C_e 'e karşı q_e grafiği çizildiği zaman grafiğin eğimi $-K_L$ değerini, doğrunun y eksenini kestiği nokta ise $K_L q_m$ değerini verir. Elde edilen sonuçlara göre tüm eşitlikler için gerekli hesaplamalar yapılarak K_L ve q_m değerleri hesaplanır.

Weber and Chakkravort tarafından (1974) tanımlanan, boyutsuz sabit olarak ifade edilen R_L denge parametresi, langmuir izotermin temel özellikleri tanımlamada kullanılır. Aşağıdaki formül ile ifade edilir:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (8)$$

Bu eşitlikte K_L , langmuir sabitini ve C_0 en yüksek başlangınç etken madde konsantrasyonunu (mg/L) ifade eder. R_L değeri 1'den büyük olduğu zaman istemsiz, 0 ile 1 arasında istemli adsorpsiyonu tanımlar. Adsorpsiyon türü $R_L = 1$ olduğu zaman doğrusal, $R_L = 0$ olduğu zaman ise dönüşümsüz olarak tanımlanabilir.

Freundlich izoterm modeli, heterojen yüzeylere veya çeşitli afinitelerde bağlanma bölgeleri olan yüzeylere olan adsorpsiyonu açıklayan empirik bir denklemdir. Kuvvetli bağlanmanın ilk aşamada olduğu ve bağlanma kuvvetinin şiddeti adsorpsiyon sayısı arttıkça azaldığı varsayılmaktadır. Freundlich modelin eşitliği aşağıdaki gibi lineer olarak ifade edilebilir (Freundlich 1906; Keleş et al., 2015);

$$\ln q = \ln K_f + \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_e \quad (9)$$

K_f ve n , Freundlich katsayısı; C_e , denge anındaki etken madde konsantrasyonu (mg/L), q , gram nanopartikül başına bağlanan etken madde miktarını (mg/g) ifade eder. $\ln q$ karşı $\ln C_e$ grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimi $(1/n)$, y eksenini kestiği nokta ise $\ln K_f$ değerini verir. $(1/n)$ değerinin 0 ile 1

arasında olması heterojen yüzeylerin varlığını gösterir. $(1/n) < 1$ olduğunda normal Langmuir izotermine uyduğunu, isemli adsorpsiyon olduğunu gösterir. Bu durumda adsorpsiyon kapasitesi artar ve yeni adsorpsiyon bölgesi oluşur. $(1/n) > 1$ olduğunda ise kooperatif adsorpsiyonun olduğunu gösterir. (Keleş et al., 2015; Wu 2007).

Tempkin izoterm modeli ise adsorbent-adsorbant etkileşimini hesaplayarak açıklayan bir modeldir. Adsorpsiyon, maksimum bağlanma enerjisine kadar uniform bağlanma enerjisi dağılımı ile karakterize edilir. Tempkin modeli, çözelti içerisindeki tüm moleküllerin adsorpsiyon entalpisi dikkate alınarak geliştirilmiştir (Inanan et al. 2016):

$$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln(K_T C_e) \quad (10)$$

$$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln K_T + \frac{RT}{b_T} \ln C_e \quad (10,1)$$

Eşitlikte, $B = RT/b_T$ (J/mol), adsorpsiyon ısı ile ilgili Tempkin sabitini; K_T , maksimum bağlanma enerjisine karşılık gelen denge bağlanma sabiti (L/mg); R , gaz sabitini (8.314 J/mol K); T (K) ise mutlak çözelti sıcaklığını ifade eder. q_e karşılık $\ln C_e$ grafiği çizildiği zaman, grafiğin eğimi B (RT/b_T) değerini; y eksenini kestiği nokta ise $B(RT/b_T) \ln K_T$, değerini verir. elde edilen sonuçlara göre hesaplama yapılarak b_T ve K_T , değerleri belirlenir.

Dubini-Radushkevich (DR) izotermi, adsorpsiyonun serbest enerji değerini hesaplamak için kullanılır. DR izotermi, heterojen bir yüzeye gauss enerji dağılımı ile adsorpsiyon mekanizmasını ifade etmek için uygulanır DR izotermi aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır (Dubinin ve Radushkevich, 1947):

$$\ln q_e = \ln q_m - \beta \varepsilon^2 \quad (11)$$

Eşitlikte β adsorpsiyon enerjisi ile ilgili sabit (mol^2/J^2), q_m , Dubinin–Radushkevich tek-tabaka kapasitesi (mg/g) ve q_e adsorplanan etken madde miktarını (mg/g) ifade etmektedir. Polanyi potansiyeli, ε , aşağıda verilen denklemden yararlanarak hesaplanmaktadır:

$$\varepsilon = RT \ln \left(1 + \frac{1}{C_e} \right) \quad (11,1)$$

Ce, etken maddenin dengedeki konsantrasyonu (mg/L); R, gaz sabitini (8.314 J/mol K); T (K) ise mutlak çözelti sıcaklığını ifade eder. In qe karşılık ϵ_2 grafik çizildiği zaman, grafiğin eğimi β 'u, y eksenini kestiği nokta ise In qm değerini verir.

Adsorpsiyonun enerjisi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanır:

$$E = \frac{1}{(2\beta)^{1/2}} \quad (11,2)$$

Enerji değerinin 1 ile 8 kJ/mol aralığında olması, adsorpsiyonun adsorbent-adsorbat arasındaki fiziksel etkileşimlerden kaynaklağı gösterir (Tüzmen et al., 2015).

3.6.3 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında sıcaklığın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda sıcaklığın etkisini incelemek için 4°C-25°C-37°C-45°C-55°C derecelerinde adsorpsiyon çalışması yapıldı. Eppendorf tüplerine 50 µL nanopartikül ve 450 µL metanol içerisinde hazırlanan 100 ppm SAM-FLU çözeltisinden eklenip 4°C-25°C-37°C-45°C-55°C derecelerinde 45 dk karıştırıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC'de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.

3.6.3.1 Adsorpsiyon termodinamikleri

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda sıcaklığın etkisini incelemek için 4°C-25°C-37°C-45°C-55°C derecelerinde yapılan adsorpsiyon deneylerinden elde edilen veriler kullanılarak, Gibbs serbest enerji değişimi (ΔG°), entalpi değişimi (ΔH°) ve entropi değişimi (ΔS°) gibi termodinamik parametreler hesaplandı (Wu 2007).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_d \quad (12)$$

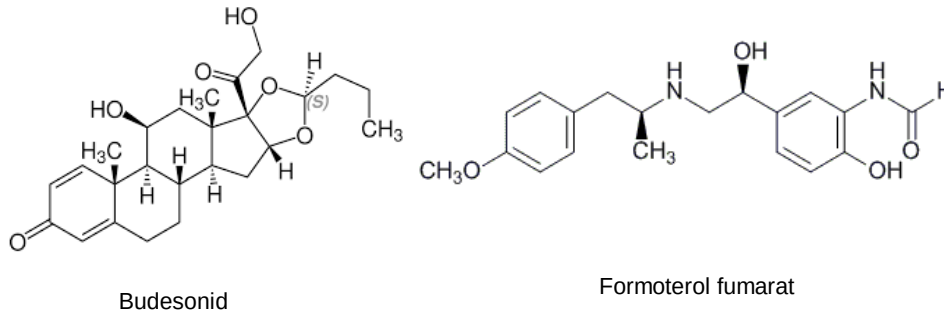
$$K_d = \frac{q_e}{c_e} \quad (13)$$

$$\ln K_d = \frac{-\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (14)$$

Eşitliklerde R, gaz sabitini (8.314 J/mol K), T (K) mutlak çözelti sıcaklığını, qe denge anında g nanopartikül başına adsorplanan madde miktarı (mg/g), Ce denge anındaki etken madde konsantrasyonu (mg/L) ifade eder ifade eder. 1/T'e lnKd grafiği çizildiği zaman, denklemin eğimi $-\Delta H/R$ 'i, y eksenini kestiği nokta ise $\Delta S/R$ 'i ifade eder.

3.7 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Seçicilik Denemeleri

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin ilaçlara olan spesifikliğini araştırmak için SAM ve FLU'ya yapısal olarak benzeyen astım hastalığının tedavisinde kullanılan budesonid (BS) ve formoterol fumarat (FF) seçildi. Formoterol fumarat, salmeterol ksinofoat gibi bir beta2-adrenoseptör agonisti ve bir bronkodilatördür. Budesonid ise flutikazon propiyonat gibi bir glukokortikoiddir ve astım, KOAH gibi göğüs hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır (Pai ve Patil 2013). Kimyasal yapıları Şekil 3-2'de gösterilmektedir.



Şekil 3-3. Budesonid ve formoterol fumaratın kimyasal yapısının gösterimi

Budesonid ve formoterol fumaratı analiz etmek için literatürde belirtilen yöntemler modifiye edilerek kullanıldı (Assi et al., 2006; Pai ve Patil 2013). Budesonid'in HPLC'de analizinde mobil faz olarak ACN: 0,025M pH 3,0 fosfat tamponu (60:40 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı 1,5mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 247 nm dalga boyunda analiz edildi. Formoterol fumarat'ta ise mobil faz olarak ACN: 0,025M pH 3,0 fosfat tamponu (20:80 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı

1,5mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 220 nm dalga boyunda analiz edildi, standart grafikleri çizildi.

Seçicilik denemesi için MIP ve NIP nanopartiküllerine BS ve FF adsorpsiyonu denemesi gerçekleştirildi. Bunun için metoh:su (50:50) içinde 100 ppm BS çözelti ve su içerisinde 96 ppm FF çözeltisi hazırlandı. Adsorpsiyon için 25°C’de 45 dk açılı karıştırıcıda karıştırıldı. Adsorpsiyon sonrasında santrifüjde 14500 rpm’de 20 dk çöktürüldü, üst fazında HPLC’de BS ve FF tayini yapıldı.

Aynı koşullarda SAM ve FLU adsorpsiyon çalışması yapılarak nanopartikülün SAM, FLU, budesonid ve formoterol fumarata olan ilgisi incelenerek seçicilikli araştırıldı.

Budesonid ve formoterol fumarat için salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat göre dağılma ve seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitliğe göre hesaplandı:

$$K_d = [(C_i - C_f)/C_f] \times V/m \quad (15)$$

Eşitlikte K_d dağılma katsayısını; C_i ve C_f ilaçların başlangıç ve sonuç derişimlerini, V kullanılan çözelti hacmini (mL) ve m nanopartikül ağırlığı (g) ifade etmektedir.

Yarışmacı türler varlığında bir ilaç molekülünün bağlanması için seçicilik katsayısı aşağıdaki eşitliğe göre denge bağlanma verilerinden elde edilebilir.

$$K = K_{\text{kalıp ilaç}} / K_{\text{girişimci ilaç}} \quad (16)$$

Baskılanmış adsorbentle diğer ilaç moleküllerin k değerleri baskılama seçiciliği hakkında yorum yapılmasına olanak verir. Bağlı seçicilik katsayısı aşağıdaki eşitlikle tanımlanır:

$$k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{kontrol}} \quad (17)$$

3.8 SAM ve FLU’nun In Vitro Salım Denemeleri

MIP nanopartiküllerinden SAM ve FLU’nun salım koşullarını optimize etmek için yüklenen SAM ve FLU konsantrasyonun, sıcaklığın ve pH etkisi incelendi.

3.8.1 SAM ve FLU salımında başlangınç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında başlangınç konsantrasyonunun etkisini incelemek için 100ppm; 500 ppm ve 1000 ppm konsantrasyonlarında yüklü nanopartikül kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 μ L nanopartikül ile 800 μ L ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 μ L 10mM pH 7,4 fosfat tamponundan ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da 6 mL 10mM pH 7,4 fosfat tamponu içeren vialler içerisine konulup, 37°C'de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 μ L örnek alım yerine 500 μ L taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (bölüm 3,5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 3-4. Diyaliz membranları içerisinde salım denemesinin hazırlanması

3.8.2 SAM ve FLU salımında pH'ın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında pH'ın etkisini incelemek için pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponu içerisinde salım denemeleri gerçekleştirildi. Yükleme için eppendorf tüplerine 200 μ L nanopartikül ile 800 μ L, 1000 ppm SAM ve FLU çözeltileri eklendi, 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 μ L 10 mM pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponlarından ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da sırasıyla 6 mL 10mM pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponları içeren vialler içerisine konulup, 37°C'de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 μ L örnek alım yerine 500 μ L taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (bölüm 3,5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 3-5. Vialler içerisinde hazırlanan salım örnekleri

3.8.3 SAM ve FLU salımında sıcaklığın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında sıcaklığın etkisini incelemek için 4°C, 25°C ve 37 °C sıcaklıklarında salım davranışları incelendi. İlaç yüklemesi için 1000 ppm konsantrasyonlarında yüklü nanopartikül kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 µL nanopartikül ile 800 µL ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 µL 10mM pH 7,4 fosfat tamponundan ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da 6 mL 10mM pH 7,4 fosfat tamponu içeren vialler içerisine konulup, 4°C için buzdolabında orbital karıştırıcıda, 25°C için oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda, 37°C' için ise sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 µL örnek alım yerine 500 µL taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (bölüm 3,5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.

3.9 Simüle Akciğer Sıvısı Ortamında SAM ve FLU Salımı

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımının akciğer ortamındaki davranışını in vitro ortamda incelemek için simüle akciğer sıvısı hazırlandı. Bunun için akciğerin derinliklerindeki sıvı ortamını taklit eden Gamble's solüsyonu literatürde belirtildiği gibi (Marques et al. 2011) Çizelge 3-1'deki gibi hazırlandı.

Çizelge 3-1. Simüle Akciğer Sıvısının içeriği

Simüle Akciğer Sıvısı (SLF)	
İçerik	Gamble's çözeltisi (g/L)
Magnezyum klorür	0,095
Sodyum klorür	6,019
Potasyum klorür	0,298
Disodyum hidrojen fosfat (Na ₂ HPO ₄)	0,126
Sodyum sülfat	0,063
Kalsiyum klorür dihidrat	0,368
Sodyum asetat	0,574
Sodyum hidrojen karbonat (NaHCO ₃)	2,0604
Sodyum sitrat dihidrat	0,097
pH	7,4

Simüle akciğer sıvısında salım davranışını incelemek için ilaç yüklemesi metanol içerisinde hazırlanmış 1000 ppm konsantrasyonlarında yüklü nanopartikül kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 µL nanopartikül ile 800 µL ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 µL simüle akciğer sıvısından ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da 6 mL simüle akciğer sıvısı içeren vialler içerisine konulup, 37°C'de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 µL örnek alım yerine 500 µL taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (Bölüm 2-5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı.

Mobil faz 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.

3.10 Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi

İlaç salım kinetiğinin matematiksel modellemesi, kontrollü ilaç salımını için temel kütle taşıma mekanizmalarını içerir. Salım kinetiklerinin matematiksel analizi için çeşitli deneysel ve yarı-deneysel modeller kullanılır (Fu and Kao 2010).

Sıfıncı dereceden hız modeli ilaç salım hızının ilaç konsantrasyonundan bağımsız olduğun sistemleri tanımlar. Aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır (Shoaib et.al, 2006):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_d t \quad (18)$$

M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_d , ilaç salım sabitini ifade eder.

Birinci dereceden eşitlik ise, ilaç salımın ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak gerçekleştiğinin ifade eder. Aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır (Guragain et.al., 2018):

$$\log \left(100 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) = \log 100 - k_1 t \quad (19)$$

M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_1 , ilaç salım sabitini ifade eder.

Higuchi, 1963 yılında, Fickian difüzyonuna dayanan zamanın karekökü olarak çözünmeyen matriksten ilaç salımını tanımlamıştır. İlk yıllarda sadece düzlemsel sistemler için geçerli olan eşitlik modifiye edilerek farklı geometri ve matriks karakterine sahip poroz yapılar için de geçerli olmuştur. Higuchi eşitliği, yalancı kararlı durum varsayımları ile türetilmiştir ve genellikle “gerçek” kontrollü salım sistemlerinde uygulanmaz (Siepmann and Peppas 2001; Shoaib et.al, 2006). Aşağıdaki eşitlik ile tanımlanır:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_H \sqrt{t} \quad (20)$$

M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; kH , ilaç salım sabitini ifade eder.

Hixson-Crowell, modeli, küp kök kanunu olarak tanımlanan eşitlik, parçacıkların veya tabletlerin yüzey alanındaki ve çaplarındaki değişimle ilaç salımını tanımlanır. Başka bir ifade ile Hixson-Crowell modeline göre, küresel partikülün büzülmesi, hacminin kübik kökü ile orantılıdır (Arifin et al., 2006; Shoaib et al., 2006). Aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir:

$$\left(100 - \frac{M_t}{M_\infty}\right)^{\frac{1}{3}} = 100^{\frac{1}{3}} - k_{HC}t \quad (21)$$

M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; kHC , ilaç salım sabitini ifade eder.

Korsmeyer-Peppas tarafında geliştirilen zamana bağımlı güç difüzyon kanunu, ilaç salımının tanımlanmasında sıklıkla kullanılan yarı-deneysel modeldir (Korsmeyer and Peppas, 1984). Aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (22)$$

Burada; k yapısal/geometrik sabit, n ise salım mekanizmasının difüzyon üstelidir. M_t ve M_∞ , sırayla t anında ve dengede ($t=\infty$) salınan ilaç miktarını gösterir. Difüzyon üstelin farklı geometrik şekillerdeki sistemlerde farklı transfer sistemlerini tanımlar. Çizelge 3-3'de farklı geometrideki yapılardan ilaç salım mekanizmaları ve güç kanunun n değerleri gösterilmektedir.

Çizelge 3-2. Güç kanununun n üstel değeri ve farklı geometrik sistemlerden ilaç salım mekanizmaları (Siepmann and Peppas 2001)

n üsteli			İlaç Salım Mekanizmaları
İnce Film	Silindir	Küre	
0,5	0,45	0,43	Fick Difüzyon
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Anormal Taşıma
1,0	0,89	0,85	Durum II-Taşıma

Bu matematik modeller sadece salımın %60'ı için geçerlidir.

3.11 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Napopartiküllerin İn Vitro Sitotoksosite Testi

Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Biyomalzemeler ve Üç Boyutlu Biyoarafazlar Laboratuvarı stoklarından çözdürülen embriyonik böbrek epitel hücre hatları (HEK-293) 1×10^5 hücre/mL konsantrasyonda (1×10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde) 96 gözlü hücre kültürü kaplarına 100'er μL 'lik hacimlerde 4 tekrarlı olarak ekildi. Hücreler %5 CO₂ içeren 37 °C'deki nemli inkübatörde 24 saat boyunca inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyonun ardından 5 farklı konsantrasyonda (0.1, 1, 10, 100, 600 $\mu\text{g/mL}$) NP içeren taze besi ortamı ile besi ortamı yenilendi. Hücreler NP'ler ile birlikte 24 saat inkübe edildi. Bu sürelerin sonunda MTT (3-(4,5-dimetilthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolyum bromid, sarı tetrazolyum tuzu, M5655, Sigma, USA) ile canlılık testi uygulandı. MTT analizinden önce hücre ekiminden sonraki 48. saatteki morfolojik incelemeleri Olympus Ix71 Inverted Research mikroskop altında yapılarak, DP71 Camera Instruction aracılığı ile fotoğraflandırıldı.

MTT için pleyttteki kullanılmış besi ortamı çekildi. Hücrelerin üzerine % 10 oranında 5 mg/mL konsantrasyondaki MTT solüsyonu içeren serumsuz besi ortamı eklendi. Hücreler karanlıkta 37 °C'de % 5 CO₂ 'li inkübatörde 3 saat süre ile inkübe edildi. 3 saat inkübasyonun sonunda MTT içeren ortam çekildi. Hücrelerin üzerine DMSO (41646, Sigma, USA) eklenerek oluşan formazan kristallerinin çözülmesi sağlandı. Hücreler 10 dakika boyunca 300 rpm'de çalkalayıcıda çalkalanarak kristallerin iyice çözünmesi sağlandı. ELISA okuyucusunda (BioTek, Elx800) 570 nm dalga boyunda okutularak absorbans değerleri kaydedildi.

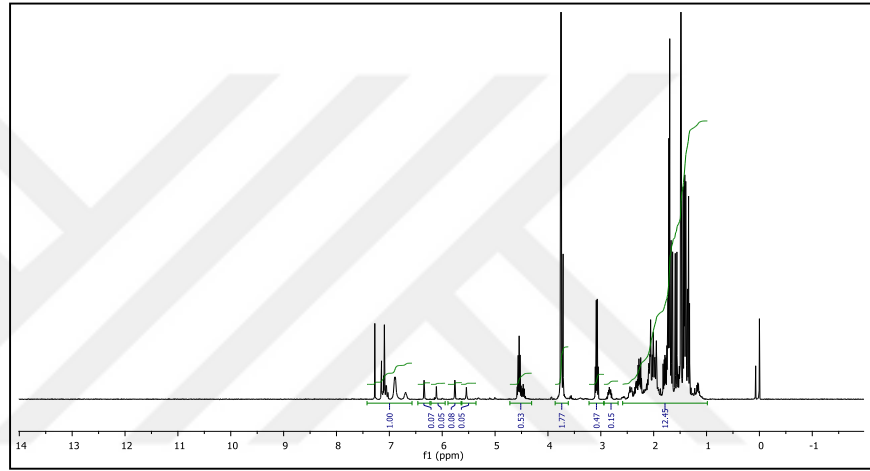
Absorbans değerlerinden hücre sayısını belirlemek üzere her iki hücre hattı için kalibrasyon eğrileri oluşturuldu. Bunun için 96 gözlü hücre kültürü kaplarına 105 hücre/100 μL konsantrasyondan 102 hücre/100 μL konsantrasyona yarı yarıya seyreltme işlemi uygulanarak 4 tekrarlı olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirildi. 24 sa. sonra MTT analizi gerçekleştirildi. Elde edilen absorbans değerleriyle hücre sayısına karşılık grafik oluşturuldu ve elde edilen eğriye ait denklem absorbans değeri şeklinde elde edilen deney verilerini hücre sayısına çevirmek üzere kullanıldı. Hücre sayısı verilerine göre sitotoksosite grafikleri elde edildi.

4 SONUÇ VE TARTIŞMA

4.1 Sentezlene Fonksiyonel Monomerlerin Karakterizasyonu

4.1.1 Fonksiyonel monomer MAAL'ın karakterizasyonu

MAAL monomerinin proton NMR spektrumu, CDCl_3 içerisinde JEOL GX-400 300 MHz (Japonya) NMR cihazı kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kaymalar (δ) ppm cinsinden CHCl_3 referans alınarak rapor edilmiştir.

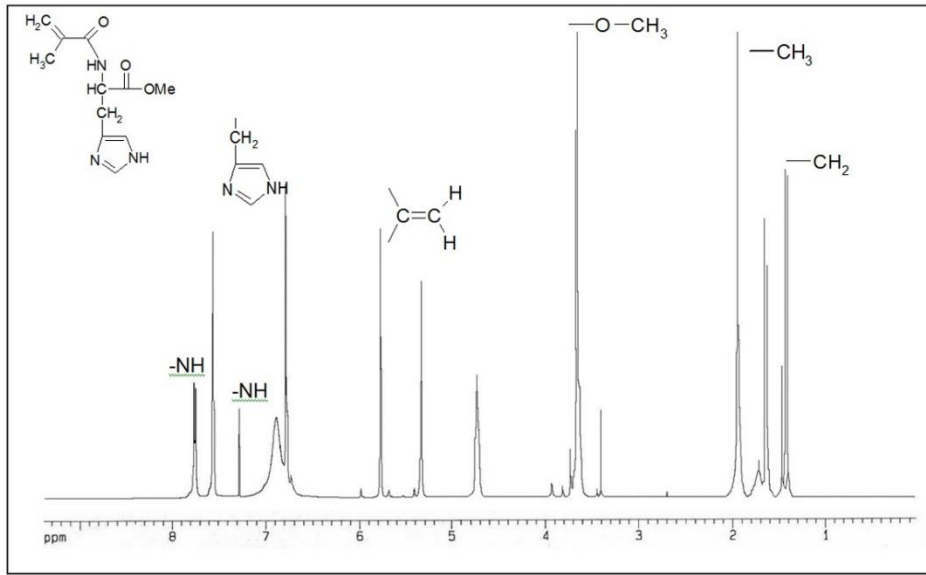


Şekil 4-1. MAH monomerinin ^1H -NMR spektrumu

Fonsiyonel monomer MAAL'ın ^1H -NMR spektrumu: ^1H NMR (CDCl_3): δ = 1.51 (d, 3H, J = 7.1 Hz, CH_3), 1.99 (s, 3H), 4.65 (t, 1H, metin, J = 7.1 Hz), 5.42 (s, 1H, vinil), 5.8 (s, 1H, vinil), 6.52 (d, 1H, amid, J = 6.22 Hz), 10.18 (bs, 1H). (Garipcan et. al, 2001).

4.1.2 Fonksiyonel monomer MAH'ın karakterizasyonu

MAH monomerinin proton NMR spektrumu, CDCl_3 içerisinde JEOL GX-400 300 MHz (Japonya) NMR cihazı kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kaymalar (δ) ppm cinsinden CHCl_3 referans alınarak rapor edilmiştir.

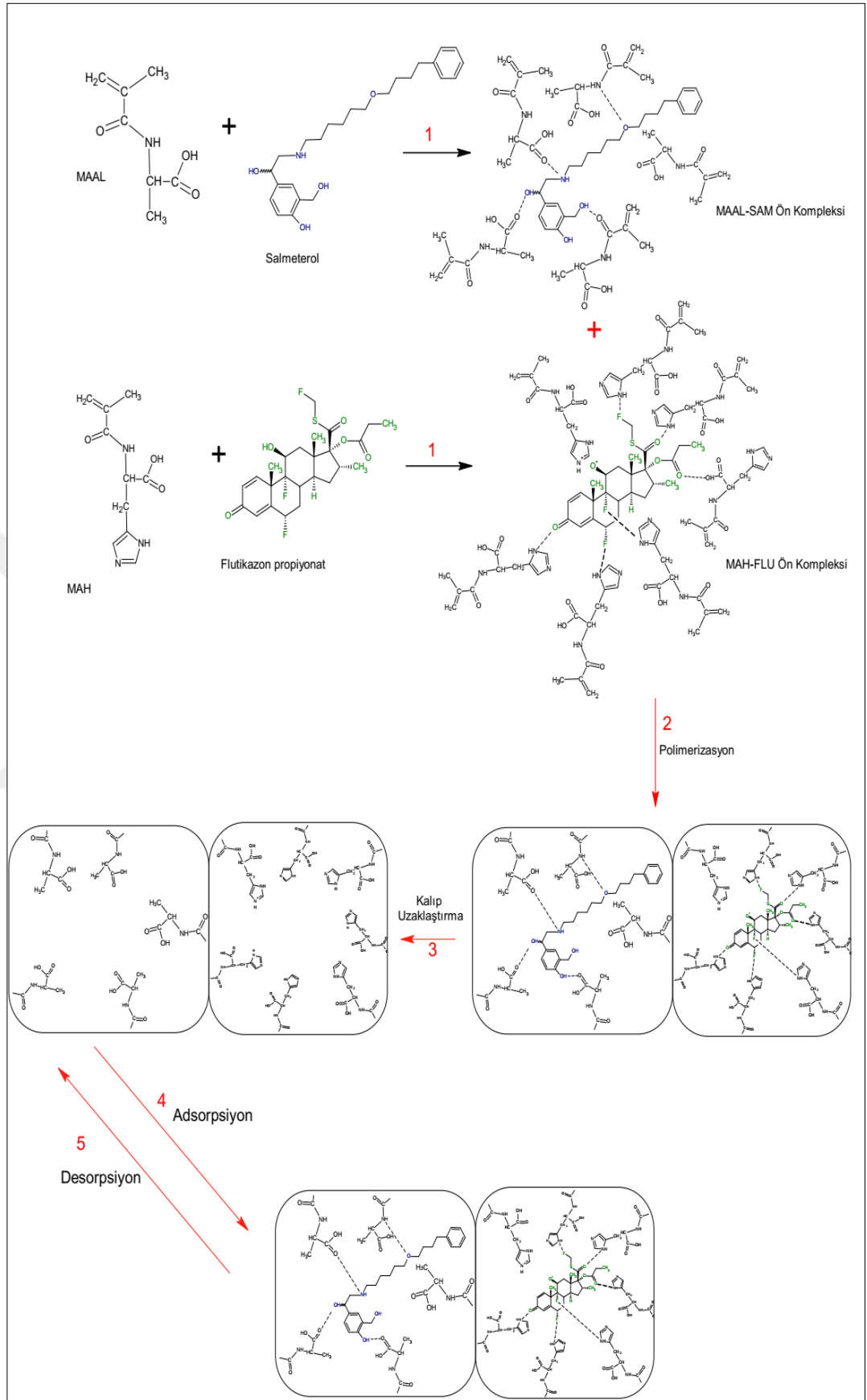


Şekil 4-2. MAH monomerinin ^1H -NMR spektrumu ve MAH kimyasal yapısı ve NMR rezonansları

MAH monomerinin kimyasal yapısının belirlenmesinde ^1H -NMR kullanılmıştır. ^1H -NMR spektrumunda MAH'ta bulunan gruplara ait karakteristik pikler görülmektedir (Şekil 4-2). Bu karakteristik pikler devam eden şekilde sıralanabilir. ^1H -NMR (CDCl_3): 1.99 (t; 3H, $J=7.08$ Hz, CH_3), 1.42 (m; 2H, CH_2), 3.56 (t; 3H, $-\text{OCH}_3$), 4.82-4.87 (m; 1H, metin), 5.26 (s; 1H, vinil H), 5.58 (s; 1H, vinil), 6.86 (δ ; 1H, $J=7.4$ Hz, NH), 7.82 (δ ; 1H, $J=8.4$ Hz, NH), 6.86-7.52 (m; 5H, aromatik).

4.2 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

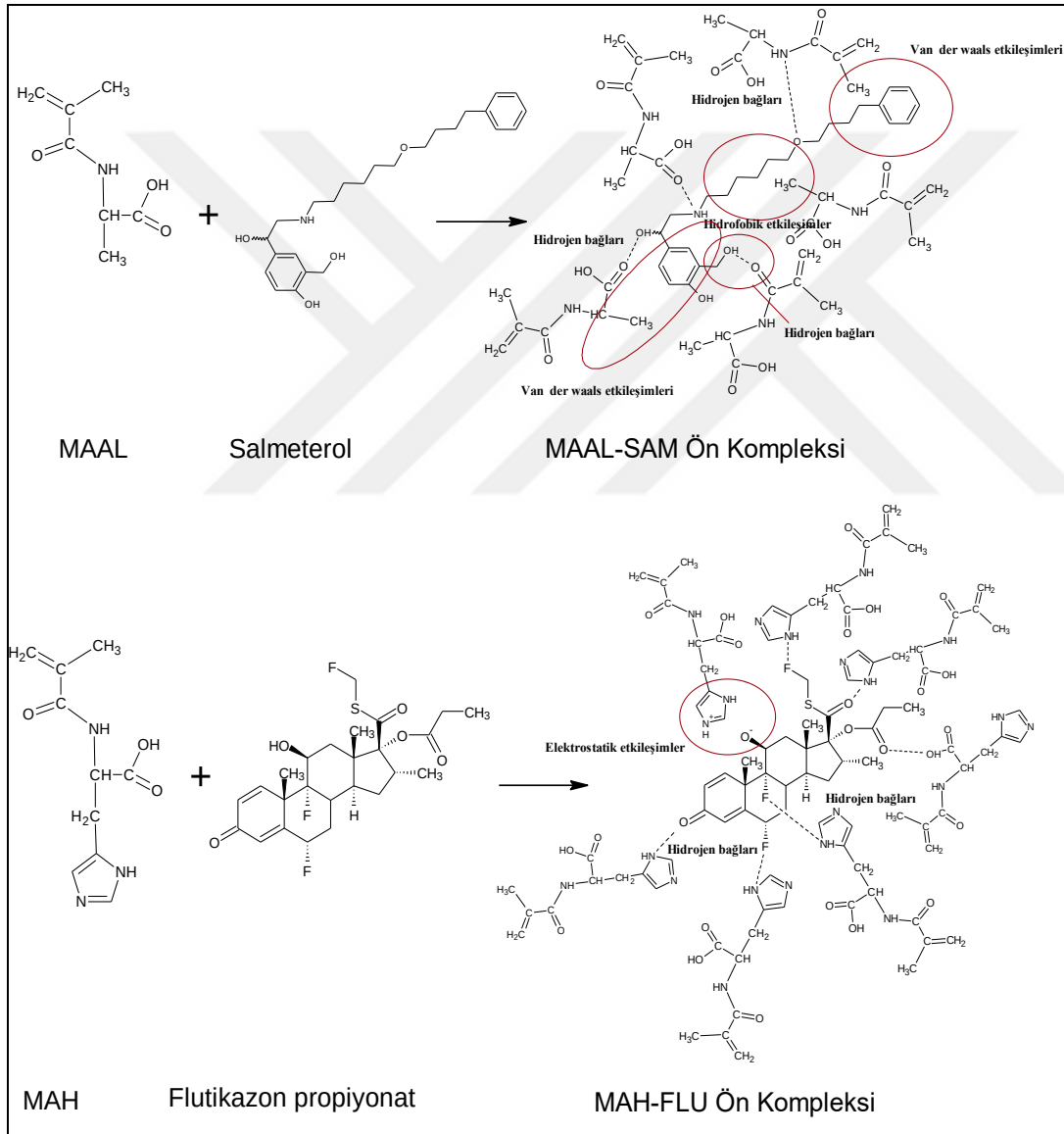
SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezinin şematik gösterimi Şekil 4-3' de gösterilmiştir.



Şekil 4-3. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezinin şematik gösterimi

4.2.1 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR (fourier transform infrared spektrofotometre) ölçümleri

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin sentezinin ilk aşaması olan ön kompleks oluşumu aşamasında MAAL monomeri ile SAM ilacı, MAH monomeri ile FLU ilacın ön kompleks oluşumu gerçekleştirilmiştir. Ön komplekslerin oluşumunda olası kimyasal etkileşimleri Şekil 4-4’de gösterildiği gibidir.

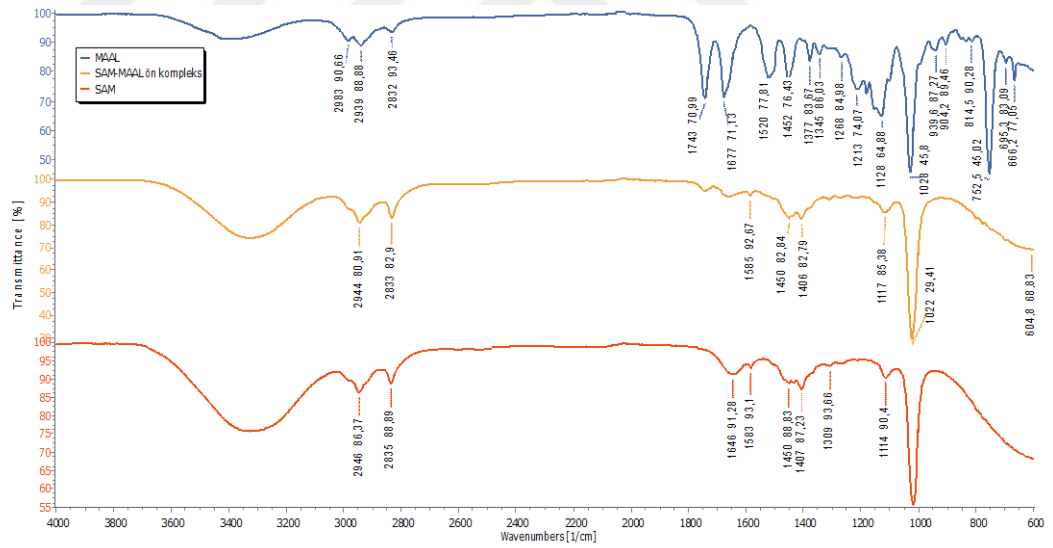


Şekil 4-4. MAAL-SAM ve MAH- FLU ön komplekslerin oluşumdaki kimyasal etkileşimlerin gösterimi

MAAL–SAM önkompleksinin oluşumunda MAAL monomerinde bulunan karbonil (C=O), hidroksil (OH), SAM molekülünde bulunan hidroksil (OH),

ortaklanmamış elektron çiftlerine sahip oksijen ve azot nedeniyle hidrojen bağları baskın olduğu düşünülmektedir. MAAL monomerinde ve SAM'da bulunan metil grupları nedeniyle hidrofobik etkileşimler de oluşabilmektedir. Ayrıca, SAM'da bulunan aromatik yapı nedeniyle de van der Waals etkileşimlerinin de oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. MAH-FLU ön kompleksinde ise, MAH monomerinde bulunan amin ve hidroksil grupları ile FLU molekülünde bulunan elektronegatifliği yüksek flor atomu ve ortaklanmamış elektronu bulunan oksijen atomları arasındaki hidrojen bağı baskın olduğu düşünülmektedir. Ayrıca MAH'ın sahip olduğu imidazol grubu ile FLU'da bulunan hidroksil grubu arasında elektrostatik etkileşimler de önkomplesin oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

MAAL-SAM ve MAH-FLU ön komplekslerin oluşumunu, her bir yapının FTIR analizi yapılarak da incelendi. Şekil 4-4'de MAAL monomerinin, SAM ilacın ve MAAL-SAM ön kompleksinin FTIR spektrumları görülmektedir.

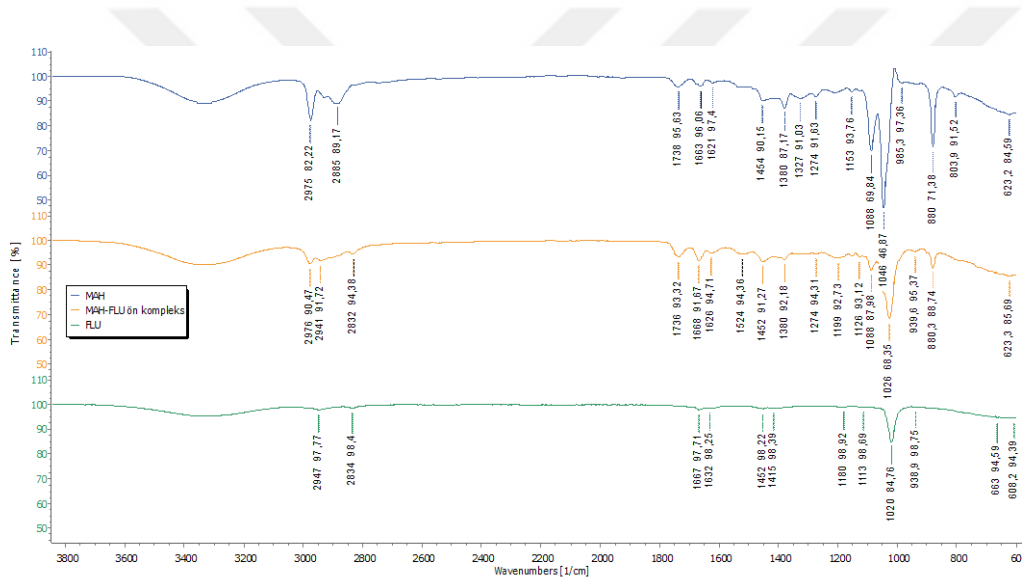


Şekil 4-5. MAAL monomerinin, SAM ilacının ve MAAL-SAM ön kompleksin FTIR spektrumları

Şekil 4,5' de görüldüğü gibi MAAL monomeri ile MAAL-SAM ön kompleksinin spektrumlarında büyük farklanma görülmektedir. Özellikle MAAL'de 1743 cm^{-1} , 1677 cm^{-1} ve 752 cm^{-1} görülen piklerin önkomplesste kaybolduğu görülmektedir. 1700 cm^{-1} civarında karbonil grubundan, aldehit-keton gruplarından ve amid grubundan kaynaklı kuvvetli pikler görülmektedir. Bu gruplardan kaynaklanan 1743 cm^{-1} pikin şiddeti ön komplekste bu grupların

hidrojen bağ oluşturdıkları için şiddetinde azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde MAAL'de 1677 cm^{-1} görülen amin 1 eğilme bandının ve 752 cm^{-1} görülen amin 1 ve amin 2 sallanma bandının ön komplekste oluşan hidrojen bağına katılım nedeniyle şiddetlerinde azalma olduğu düşünülmektedir. Ayrıca SAM molekülünde 34000 cm^{-1} civarında görülen hidroksil titreşim bandı, MAAL ile ön kompleks oluşturulan oluşan hidrojen bağları nedeniyle ön komplekste görülen hidroksil titreşim bandının şiddetinde azalma gözlemlenmiştir. Bu durumlar göz önüne alındığında, istedilen şekilde ön kompleksin oluştuğu düşünülmektedir.

Benzer şekilde, MAH monomerinin, FLU ilacın ve MAH-FLU ön kompleksin FTIR spektrumları Şekil 4-6'de görülmektedir.

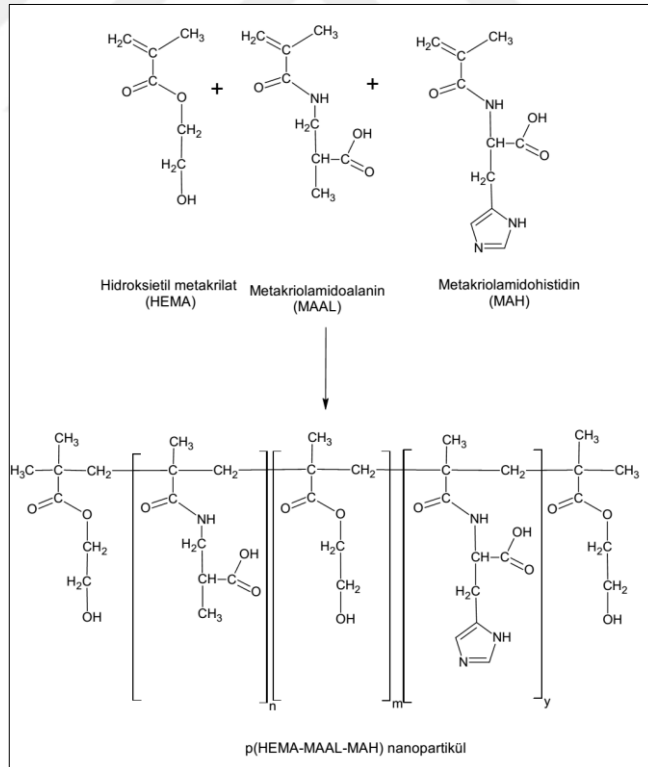


Şekil 4-6. MAH monomerinin, FLU ilacının ve MAH-FLU ön kompleksin FTIR spektrumları

FTIR spektrumlarında $2800\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ civarında karboksilik asidin OH titreşim bandı, alkanların C-H titreşim bandı, aldehit grubundaki C-H titreşim bandı, aromatik- alken grubundaki C-H titreşim bandı görülebilir. Şekil 4-5'de görüldüğü gibi MAH monomerin 2982 cm^{-1} titreşim bandı ön kompleks oluşumunda şiddetinde azalma meydana gelmiştir. Bu da özellikle karboksilik asitdin O-H titreşim bandının ön komplekste hidrojen bağ yapımına katıldığı için azalma gösterdiği düşünülmektedir. FLU molekülünde 3400 cm^{-1} civarında görülen hidroksil O-H titreşim bandın şiddeti bir tane OH grubu içerdiği için daha düşük olup, ön komplekste daha şiddetlidir. 1700 cm^{-1} civarında karbonil grubundan,

aldehit-keon gruplarından ve amid grubundan kaynaklı kuvvetli pikler görölmektedir. Bu gruplardan kaynaklanan 1747 cm^{-1} pikin şiddeti ön komplekste bu grupların hidrojen bağ oluşturdıkları için şiddetinde azalma gözlenmiştir. $800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ arasında amin1 ve amin 2 N-H sallanma bandları görölmektedir. MAH'ın spektrumda imidazol halkasından kaynaklanan 880 cm^{-1} civarında görölen bu bandlanmanın ön komplekste hidrojen bağına katıldığı için azaldığı düşünölmektedir. Ayıca $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ civarında alifatik aminlerin (C-N) titreşim bandı ve ester, eter, alkol ve karboksilik asit kaynaklı C-O titreşim bandı görölmektedir. MAH'ın spektrumunda bulunan karboksil grubundan kaynaklı C-O titeşim bandının karboksil grubunun hidrojen bağ yapımına katıldığı için şiddetinde azalma gözlemlendiği düşünölmektedir. Bu durumlar göz önüne alındığında, istedilen şekilde ön kompleksin oluştuğu düşünölmektedir.

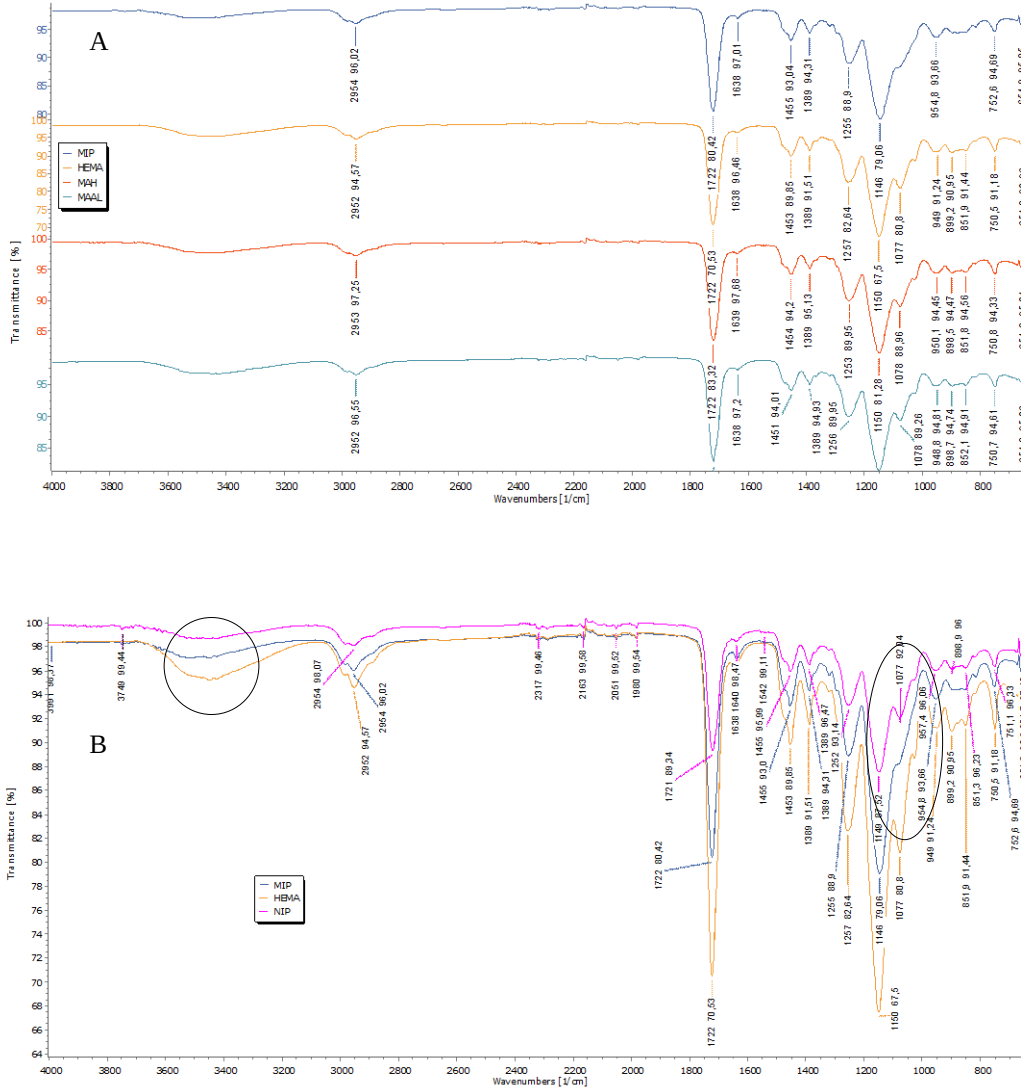
SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin olası kimyasal yapısı Şekil 4-7' de gösterildiği gibidir.



Şekil 4-7. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin olası kimyasal yapısı

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin FTIR spektrumları Şekil 4-8'de görölmektedir. Elde edilen spektruma göre $3300\text{-}3500$

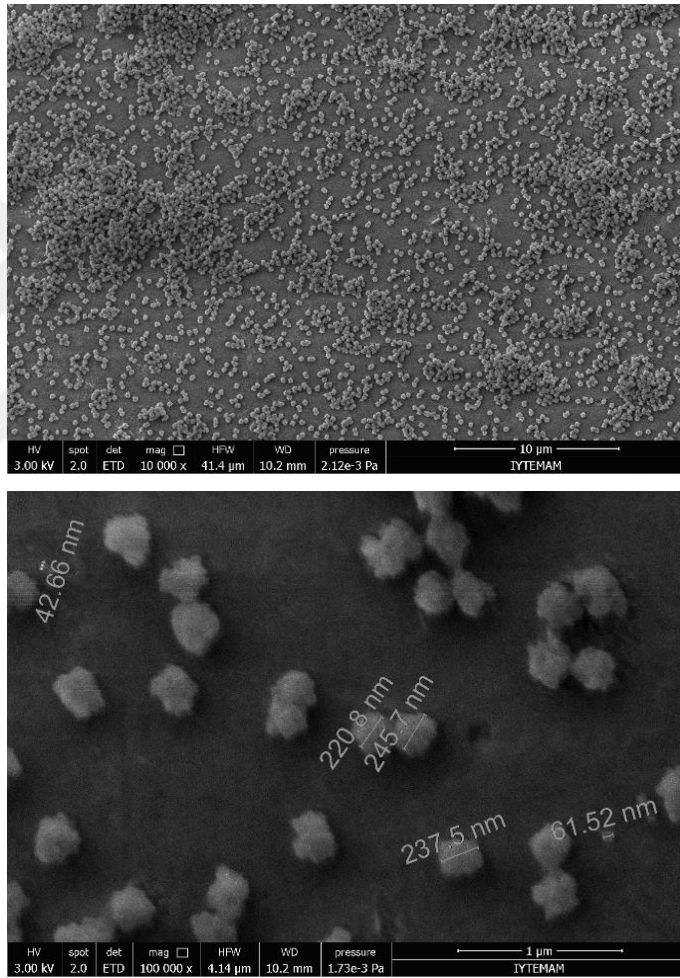
cm^{-1} arası karakteristik hidrojen bağı alkol, -OH, gerilme titreşim bandına sahiptir. MIP ve NIP nanopartiküllerin OH gerilme bandı p(HEMA) nanopartiküllerin OH gerilme bandına göre daha yayvanlaşmış, sivriliği azalmıştır. Bu da p(HEMA) nanopartiküldeki OH grupların bağ oluşumuna katıldığını göstermektedir. 3000-2800 cm^{-1} arasında alken, alken, aromatik, alken yapılarındaki C-H titreşim bandı görülmektedir. Bu titreşim bandları MIP, NIP ve p(HEMA) nanopartikülleri için sırasıyla 2954 cm^{-1} , 2954 cm^{-1} , 2952 cm^{-1} görülmektedir. 1722 cm^{-1} civarında baskın karbonil C=O titreşim bandı (ester, aldehit, keton gibi gruplardaki), MAH monomerinden kaynaklanan 1638 cm^{-1} civarında amin I eğilme bandı, 1453 cm^{-1} civarında alifatik amin (C-N) titreşim bandı görülmektedir.



Şekil 4-8. A) MIP, p(HEMA), p(HEMA-MAH); ve p(HEMA-MAAL) nanopartiküllerin ayrı B) MIP, p(HEMA) ve NIP nanopartiküllerin çıkışık ATR-FTIR spektrumu.

4.2.2 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM (taramalı elektron mikroskobu) fotoğrafları

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM fotoğrafları ile morfolojik yapıları incelendi. Şekil 4-9'de görüldüğü gibi küresel morfolojiye sahip nanopartiküllerin elde edildiği belirlendi. Ayrıca nanopartiküllerin boyutları Zeta boyut analizi ve SPM analizi ile uyumlu olduğu tespit edildi.



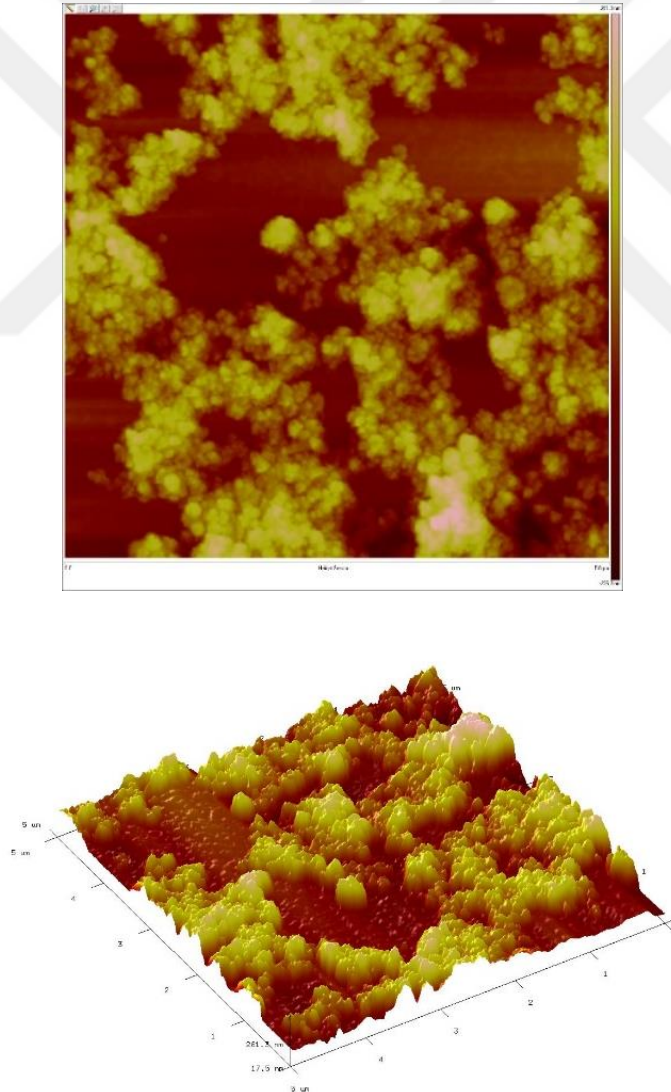
Şekil 4-9. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SEM fotoğrafları

4.2.3 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM (taramalı uç mikroskobu) analizi

Taramalı uç mikroskobu (SPM), Taramalı Tünelleme Mikroskobu (STM), Atomik Kuvvet Mikroskobunu (AFM) ve Taramalı Yakın-Alan Işık Mikroskobu

(SNOM) gibi mikroskop ailesinden oluşur. SPM'nin temel prensibi, prob üzerindeki ultra ince iğne ucu ile malzeme arasındaki etkileşimi ölçmesine dayanır. İğne ucu yardımı ile yüksek çözünürlüklü, atomik boyutlarda üç boyutlu görüntüleme sağlar (Loos 2005).

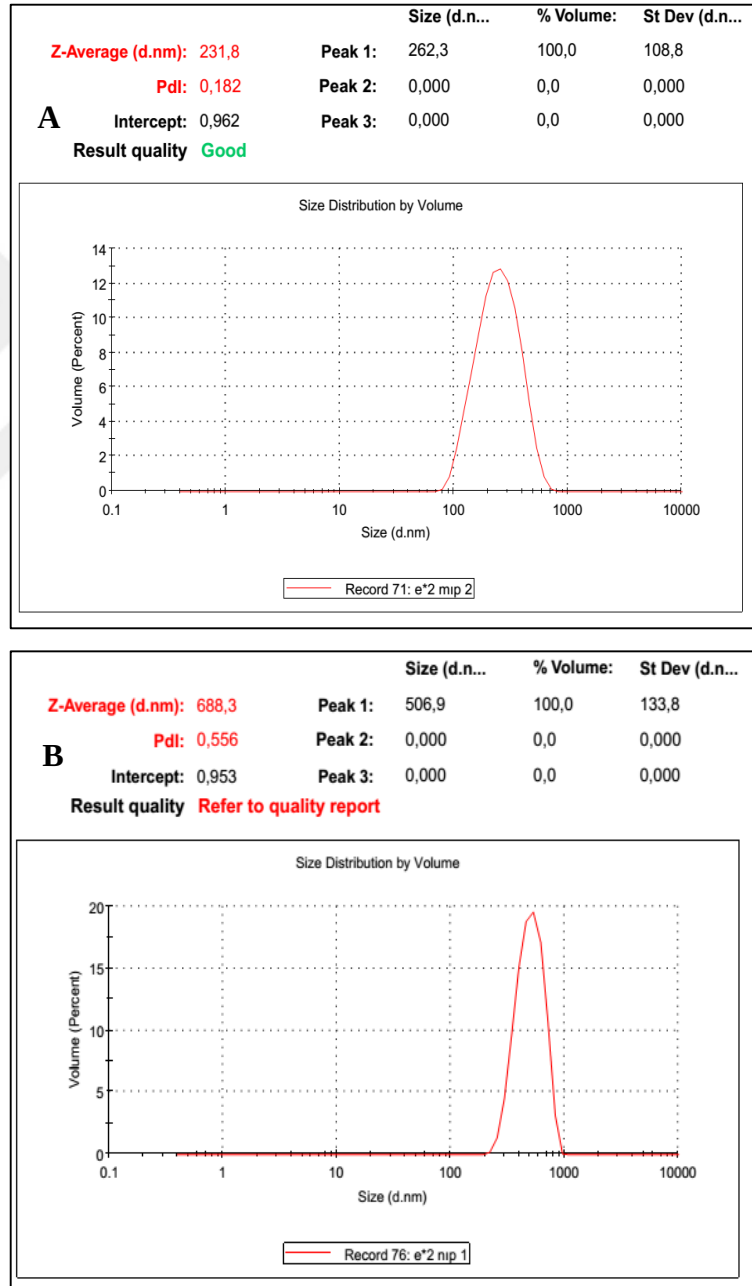
SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM (taramalı uç mikroskobu) görüntüleri Şekil 4-10'da verilmiştir. SPM görüntülerine göre küresel morfolojiye sahip nanopartiküllerin sentezlendiği görülmektedir. Ayrıca SPM analizinde, 247-275 nm aralığında değişen nanopartiküllerin varlığı tespit edilmiştir. Bu durum SEM ve Zeta boyut analizi sonuçlarıyla da uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4-10. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SPM görüntüleri

4.2.4 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin zeta boyut analizi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin (MIP) ve baskılanmamış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin zeta boyut analizi Malvern Zeta-sizer cihazıyla yapıldı. Nanopartiküller oldukça seyreltik olacak şekilde hazırlanarak analizi gerçekleştirildi. Nanopartiküllerin zeta boyut analiz sonuçları Şekil 4-11’de verilmiştir.

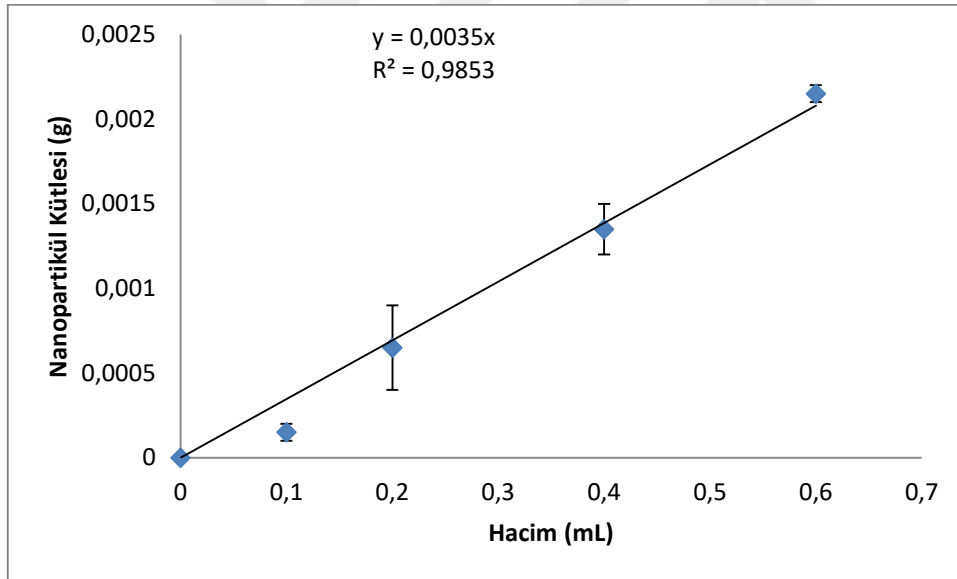


Şekil 4-11 A) SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin B) Baskılanmamış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin boyut analizi

Analiz sonucuna göre MIP nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu 231,8 nm; polidispersite değeri (PDI) 0,182 olduğu belirlendi. Elde edilen bu sonucun SEM ve SPM sonuçlarıyla da uyumlu olduğu görülmüştür. NIP nanopartiküllerin ise ortalama parikül boyutu 688,3 nm; poidispersite değeri (PDI) 0,556 olduğu belirlenmiştir.

4.2.5 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin kuru kütle tayini için 0,1 mL; 0,2 mL; 0,4 mL v 0,6 mL nanopartiküllerdeki kuru kütle miktarı belirlendi. Bunun için Şekil 4-13'de elde edilen kuru edilen hacim-kütle grafiğinden yararlanılarak birim hacim (mL) başına düşen g nanopartikül miktarı 0,0035 g nanopartikül/mL olarak hesaplandı.



Şekil 4-12. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin hacim-kütle grafiği

4.2.6 SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin spesifik yüzey alan hesabı

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerinin yüzey alanlarının hesaplanmasında, zeta boyut analizinden tespit edilen 231,8 nm partikül çap değeri ve 1 mL'deki nanopartikül sayısını veren aşağıdaki eşitlik kullanıldı (Bangs, 1987; Feyzioğlu Demir et al., 2018).

$$N = 6 \times 10^{10} \times S / \pi \times \rho_s \times d^3$$

$$N = 6 \times 10^{10} \times 10 / (3,14 \times 0,701 \times (0,2318)^3)$$

$$N = 2,18858 \times 10^{13} \text{ 1 mL deki partikül sayısı}$$

$$\text{Kürenin yüzey alanı} = 4 \times \pi \times r^2$$

$$\text{Kürenin yüzey alanı} = 4 \times (3,14) \times (115,9 \cdot 10^{-9})^2$$

$$\text{Kürenin yüzey alanı} = 1,68716 \times 10^{-13}$$

1 mL'deki kuru kütle miktarı 0,0035 g'dır.

$$\text{Spesifik yüzey alanı} = [(N \times A) / \text{mL deki kuru nanopartikül kütlesi (g)}]$$

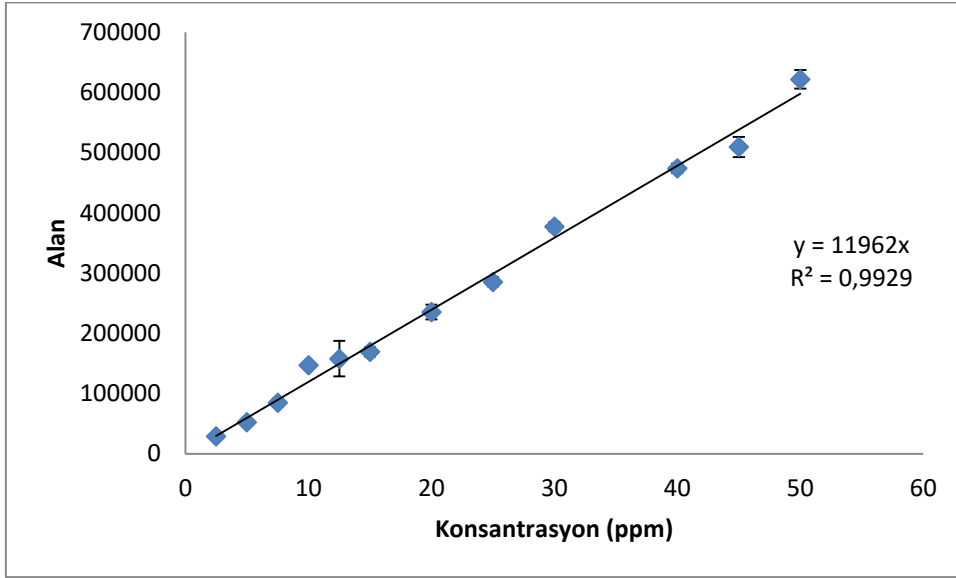
$$\text{Spesifik yüzey alanı} = [(2,18858 \times 10^{13} \times 1,68716 \times 10^{-13}) / 0,0035]$$

$$\text{Spesifik yüzey alanı} = 1055,00 \text{ m}^2/\text{g} \text{ olarak bulunmuştur.}$$

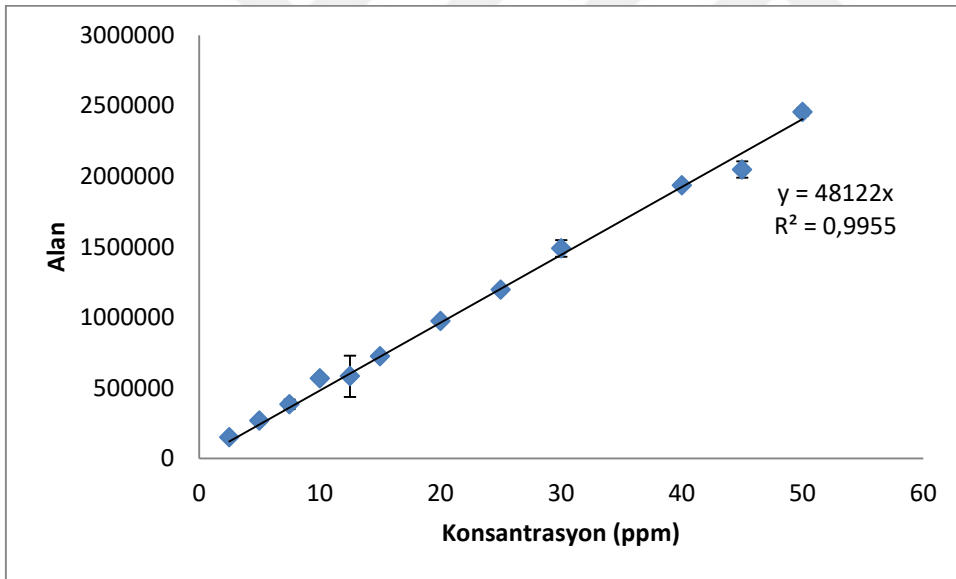
4.3 SAM ve FLU'nun Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizi

SAM ve FLU'nun analizi Shimadzu SCL-10AVP HPLC Sisteminde, 250 x 4,6 mm C18 kolonu kullanılarak yapıldı. Adsorpsiyon ve ilaç salım çalışmalarında iki farklı yöntem kullanıldı.

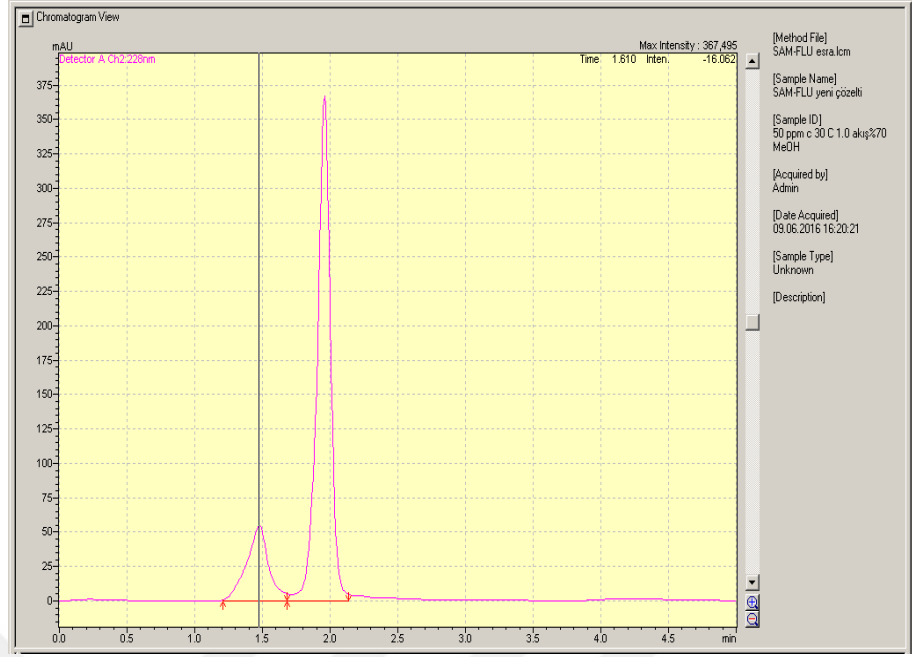
Adsorpsiyon çalışmalarında HPLC analizi için Samir ve arkadaşlarının kullanıkları (2012) yöntem modifiye edildi. Mobil faz olarak Metanol: Asetonitril (70:30) kullanıldı. Akış hızı 1.0 mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 228 nm dalga boyunda analiz edildi. Kalibrasyon grafiği 2,5-50 ppm aralığında hazırlandı.



Şekil 4-13. Salmeterol ksinafoattın kalibrasyon grafiği (Mobil faz: METOH:ACN (70:30); Akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık 30 °C; 228 nm dalga boyunda)

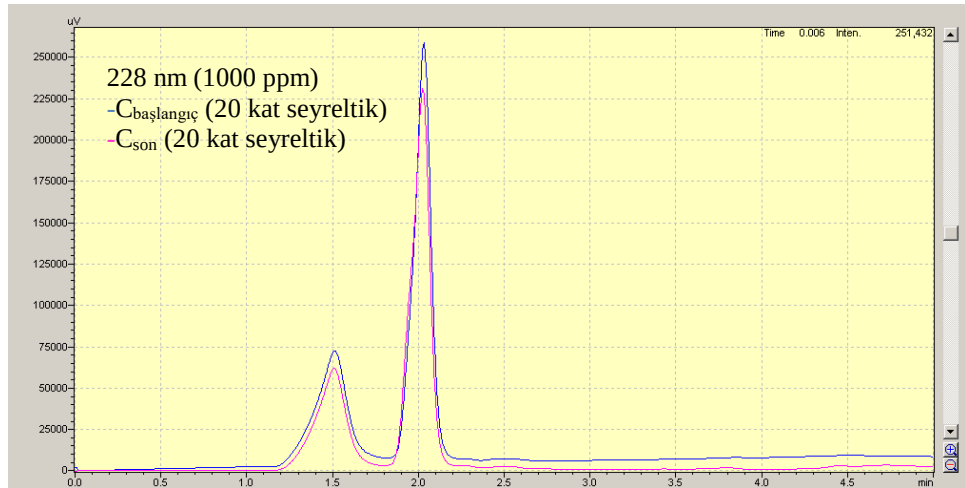


Şekil 4-14. Flutikazon propiyonattın kalibrasyon grafiği (Mobil faz: METOH:ACN (70:30); Akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık 30 °C; 228 nm dalga boyunda)



Şekil 4-15. 50 ppm SAM ve FLU standart çözeltisinin kromatogramı (Alıkonma zamanları salmeterol ksinafoat için 1.474 dakika, flutikazon propiyonat 1.955 dakika)

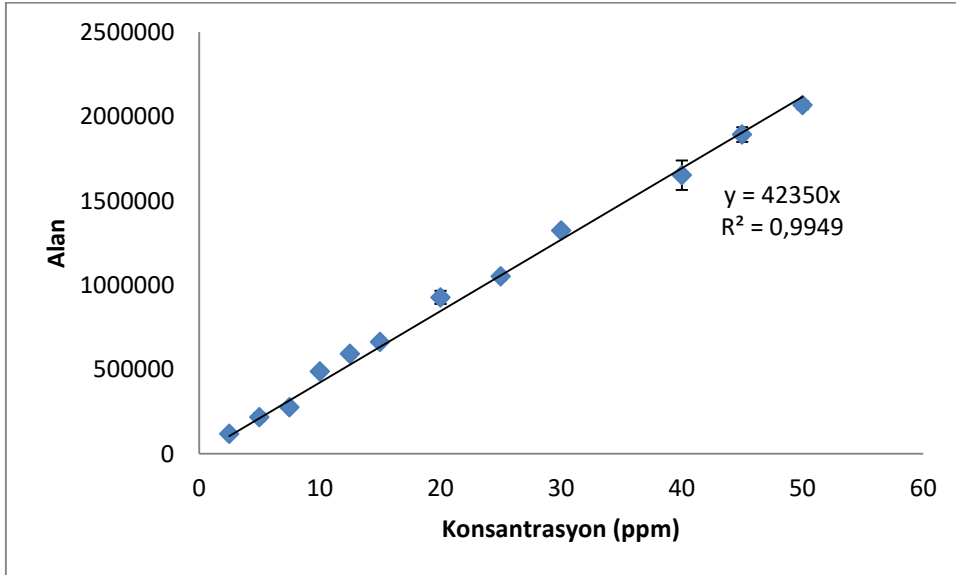
SAM için kalibrasyon grafiğinin denklemi $y=11962x$, $R^2=0,9929$ olarak belirlendi ve grafik Şekil 4-14’de görüldüğü gibidir. FLU için kalibrasyon grafiği ise $y=48112x$, $R^2=0,9955$ olarak belirlendi ve grafik Şekil 4-15’de görüldüğü gibidir. SAM ve FLU adsorpsiyon denemelerinde bağlanan SAM ve FLU miktarlarını belirlemek için bu grafikler kullanılmıştır.



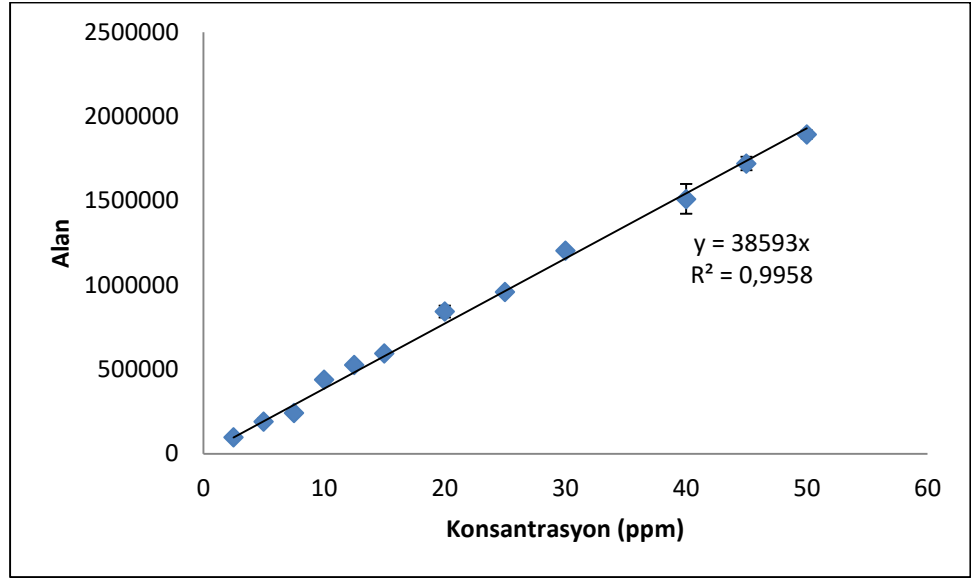
Şekil 4-16. 25 °C metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU ortamın kromatogramı (Alıkonma zamanları salmeterol ksinafoat için 1.474 dakika, flutikazon propiyonat 1.955 dakika)

Şekil 4-16’da adsorpsiyon çalışmalarında, 25 °C sıcaklıkta metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU’nun MIP nanopartiküller ile adsorpsiyonundan önceki ve sonraki konsantrasyonlarının kromatogramları verilmiştir.

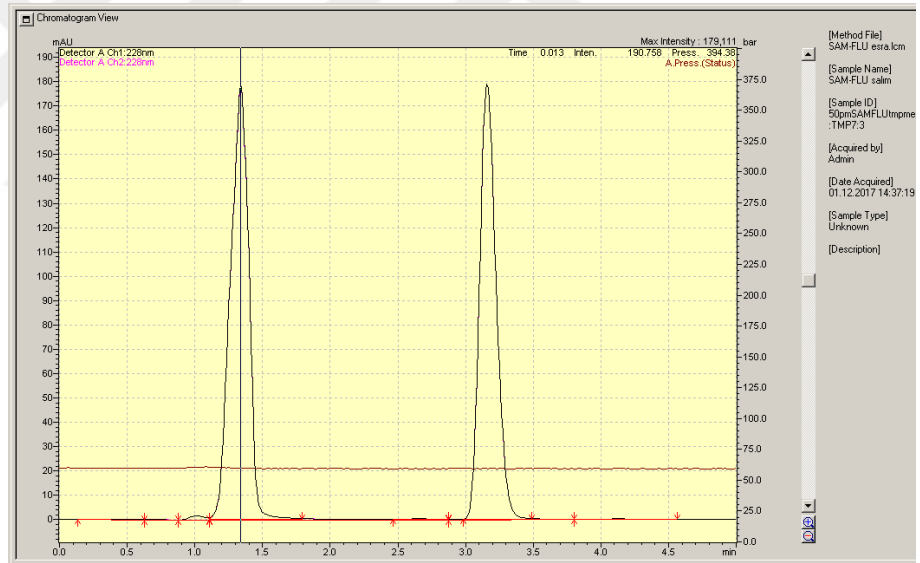
İlaç salım çalışmalarında ise SAM ve FLU’yı HPLC’de analiz etmek için Ammar ve arkadaşlarının (2017) kullandıkları yöntem modifiye edildi. Mobil faz olarak Asetonitril:20 mM fosfat tamponu pH 6,2 (70:30 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı 1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 228 nm dalga boyunda analiz edildi. Tüm HPLC analizlerinde mobil faz kullanılmadan önce ultrasonik banyoda degaz edildi. Kalibrasyon grafiği 2,5-50 ppm aralığında hazırlandı.



Şekil 4-17. Salmeterol ksinafoattın kalibrasyon grafiği (Mobil faz: ACN:20 mM fosfat tamponu pH 6,2 (70:30 %, v/v); Akış hızı:1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C;228 nm dalga boyunda)



Şekil 4-18. Flutikazon propiyonattın kalibrasyon grafiği (Mobil faz: ACN:20 mM fosfat tamponu pH 6,2 (70:30 %, v/v); Akış hızı:1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C; 228 nm dalga boyunda)



Şekil 4-19. 50 ppm SAM ve FLU standart çözeltisinin kromatogramı (Alıkarma zamanları, salmeterol ksinafoat için 1.354 dakika, flutikazon propiyonat 3.135 dakika)

SAM için kalibrasyon grafiğinin denklemi $y=42350x$, $R^2=0,9949$ olarak belirlendi ve grafik Şekil 4-18’de görüldüğü gibidir. FLU için kalibrasyon grafiği ise $y=38593x$, $R^2=0,9958$ olarak belirlendi ve grafik Şekil 4-19’de görüldüğü gibidir. SAM ve FLU salım denemelerinde salınan SAM ve FLU miktarlarını belirlemek için bu grafikler kullanılmıştır.



Şekil 4-20. 37 °C metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU ortamının kromatogramı (Alıkonma zamanları salmeterol ksinafoat için 1.354 dakika, flutikazon propiyonat 3.135 dakika)

Şekil 4-20’de 37 °C sıcaklıkta, metanol içerisinde 1000 ppm SAM ve FLU’nun MIP nanopartiküllerle adsorpsiyonu öncesi ve sonrasındaki kromatogramları verilmiştir.

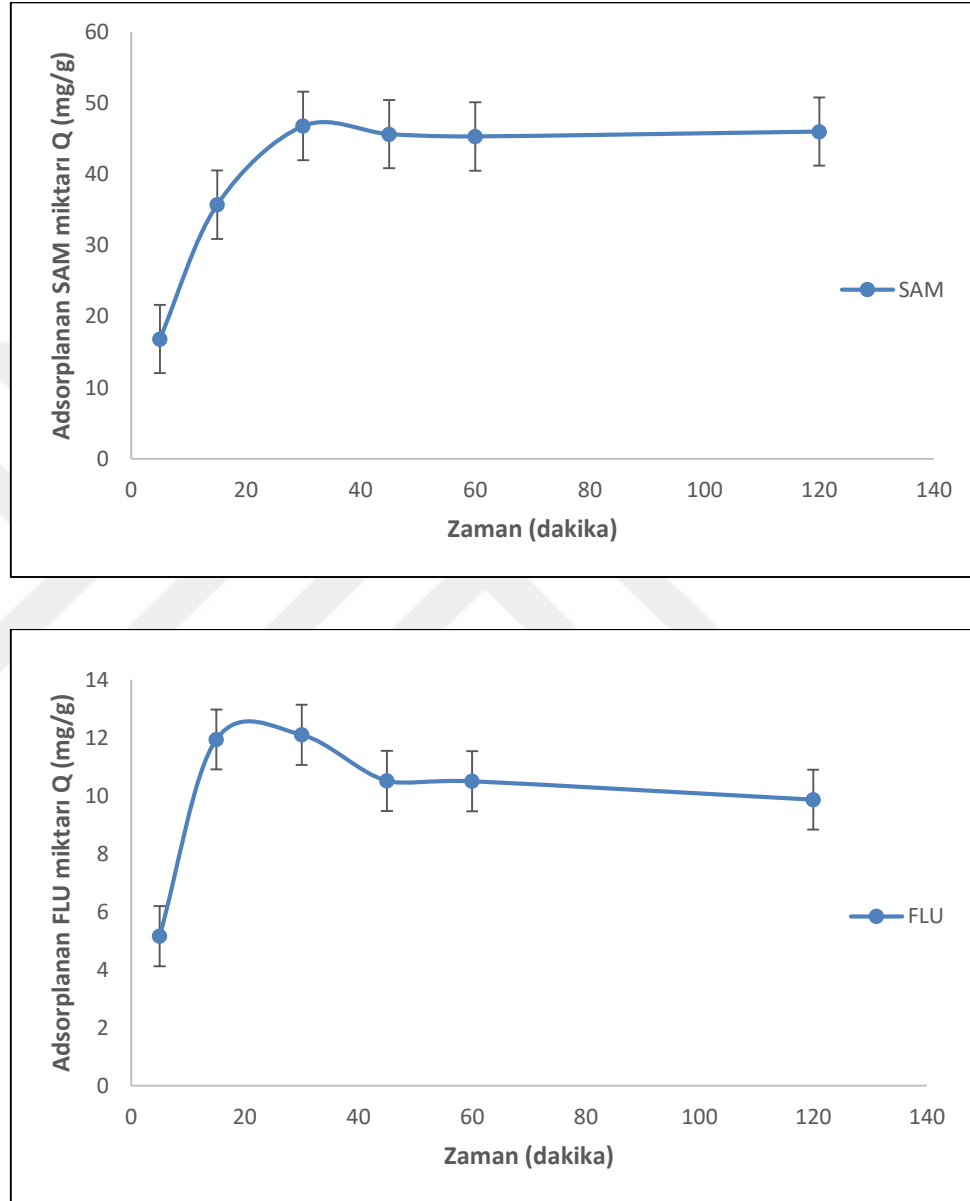
4.4 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllere SAM ve FLU Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu için adsorpsiyona zamanın, başlangıç ilaç konsantrasyonunun, sıcaklığın etkisi incelenmiştir. Her bir parametre için MIP nanopartiküllerin bağlanma kapasiteleri (Q değerleri) hesaplanarak g nanopartikül başına adsorplanan ilaç miktarları bulunmuştur. Ayrıca her biri için adsorpsiyon kinetiği, izotermi ve termodinamik parametreleri hesaplanarak adsorpsiyon şekilleri tanımlanmıştır.

4.4.1 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında zamanın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda zamanın etkisini incelemek için metanol içerisinde, 100 ppm SAM ve FLU içeren bir çözelti hazırlandı. Eppendorf tüplerine 50 µL nanopartikül ve 450 µL SAM ve FLU çözeltisi eklenip oda sıcaklığında açılı karıştırıcıda karıştırıldı. Sırasıyla 5.-15.-30.-45.-60. ve 120. dakikalarda örnekler

alındı. Süre sonlarında eppendorf tüpleri 14500 rpm’de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC’de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.



Şekil 4-21. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda zamanın etkisi (100 ppm SAM ve FLU; 25 °C)

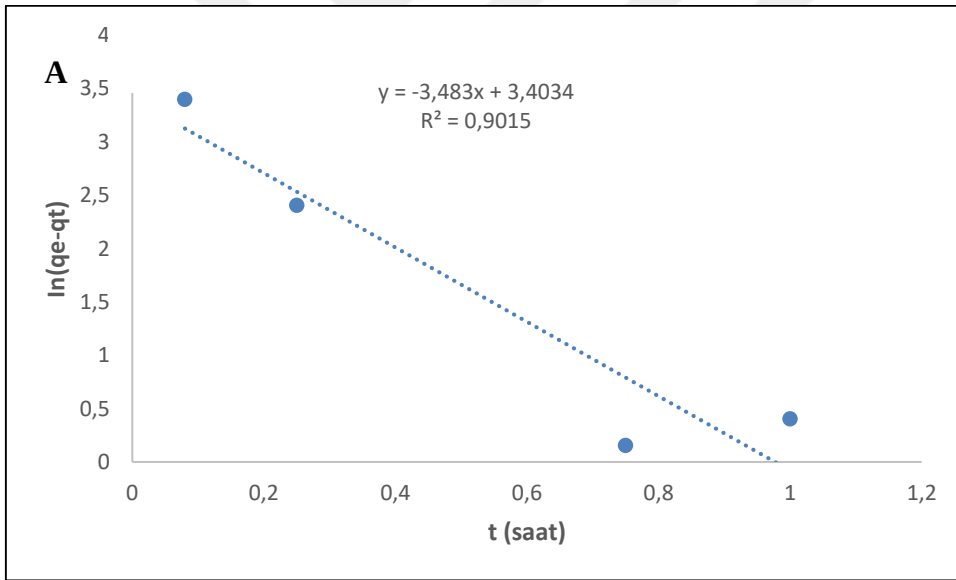
Elde edilen verilere grafiklere göre SAM’ın ve FLU’nun adsorpsiyonun zamanla arttığı, belirli bir değerden sonra dengeye geldiği belirlendi. Şekil 4-21’de görüldüğü gibi 45 dakikada adsorpsiyon dengeye ulaştığı ve maksimum adsorpsiyon değerine ulaştıkları görüldü. 100 ppm SAM ve FLU içeren ortamda

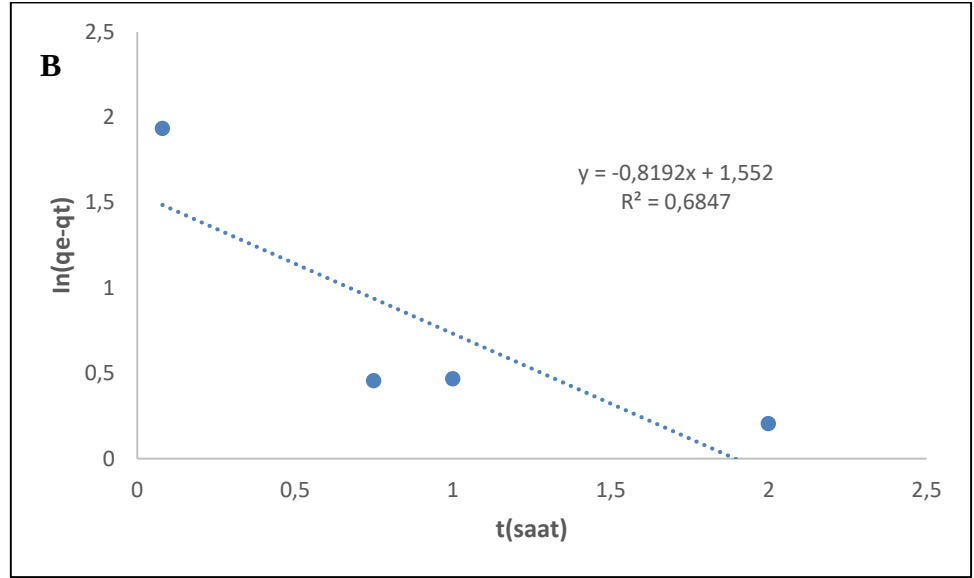
adsorplanan SAM miktarı 45,63 mg/g; FLU miktarı ise 10,512 mg/g olarak hesaplandı.

4.4.1.1 Adsorpsiyon kinetiği

SAM ve FLU'nun adsorpsiyon kinetiğini tanımlamak için yalancı birinci mertebe kinetik model, yalancı ikinci mertebe kinetik model ve Elovich eşitliği kullanıldı. Bölüm 3.6.1.1'de verilen denklemler kullanılarak hesaplamalar yapıldı ve grafikler çizildi.

Yalancı birinci mertebe kinetik model eşitliğin integrali alınıp t 'ye karşı $\ln(q_e - q_t)$ karşı grafiğe geçirildiği zaman, eğim k_1 'i; y eksenini kesim noktası ise $\ln q_e$ 'i ifade eder. SAM ve FU için yarı ayrı yapılan hesaplamada elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.

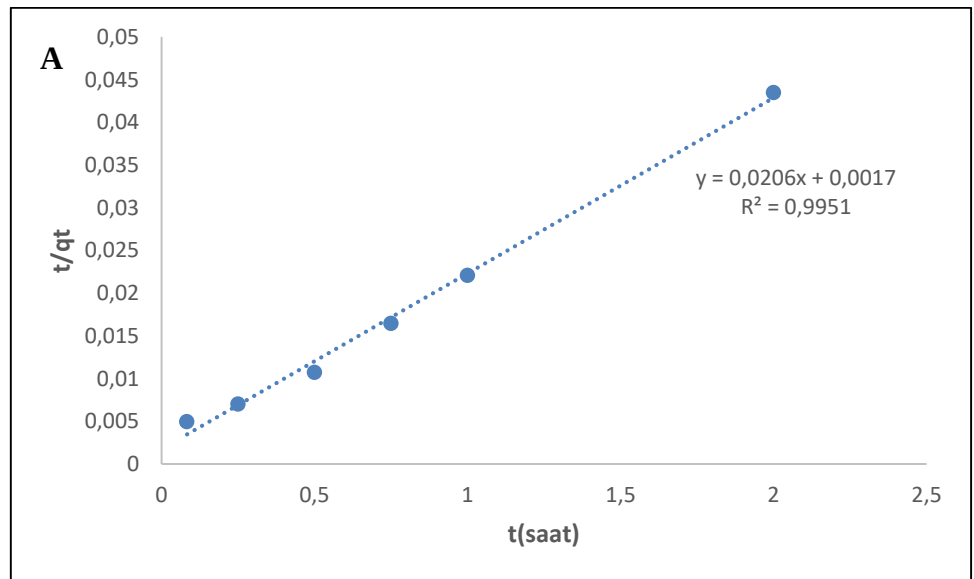


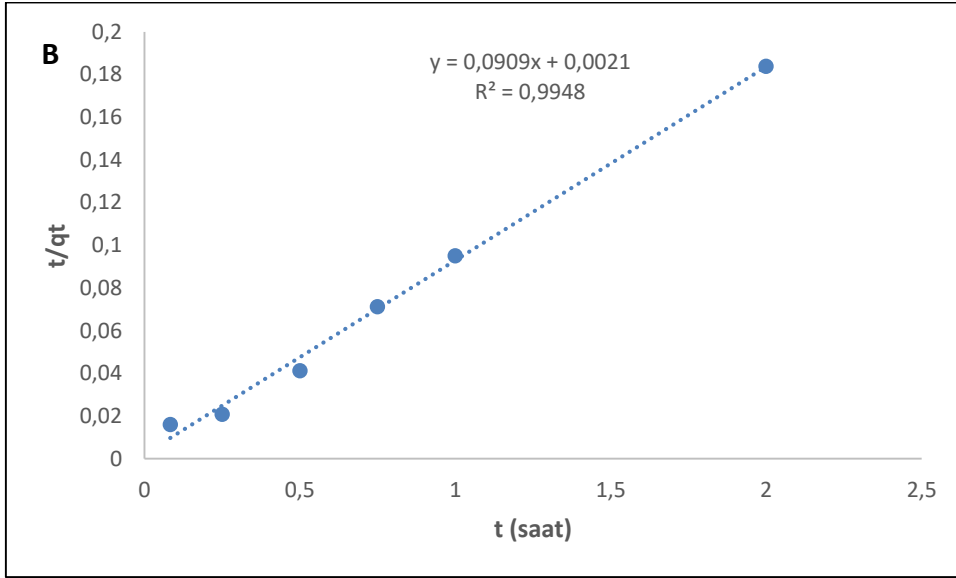


Şekil 4-22. A) SAM, B) FLU için yalancı birinci mertebe kinetik modeli grafikleri

Şekil 4-22’de görüldüğü gibi, SAM için elde edilen grafiğin denklemi $y = -3,483x + 3,4034$, $R^2 = 0,9015$ ’dir. FLU için ise $y = -0,8192x + 1,550$, $R^2 = 0,6847$ ’dir. Denklemlerin eğim k_1 ’ı; y eksenini kesim noktası ise $\ln q_e$ ’i verdiği için SAM ve FLU için k_1 ve q_e değerleri grafikler kullanılarak hesaplandı.

Yalancı ikinci mertebe kinetik modeli için Bölüm 3.6.1.1 de ifade edildiği gibi t/qt ’ye karşı t grafi çizildiği zaman, grafiğin eğimi $1/q_e$ ’i; y eksenini kestiği nokta ise $1/k_2q_e^2$ ’i ifade eder. SAM ve FU için yarı ayrı yapılan hesaplamada elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.

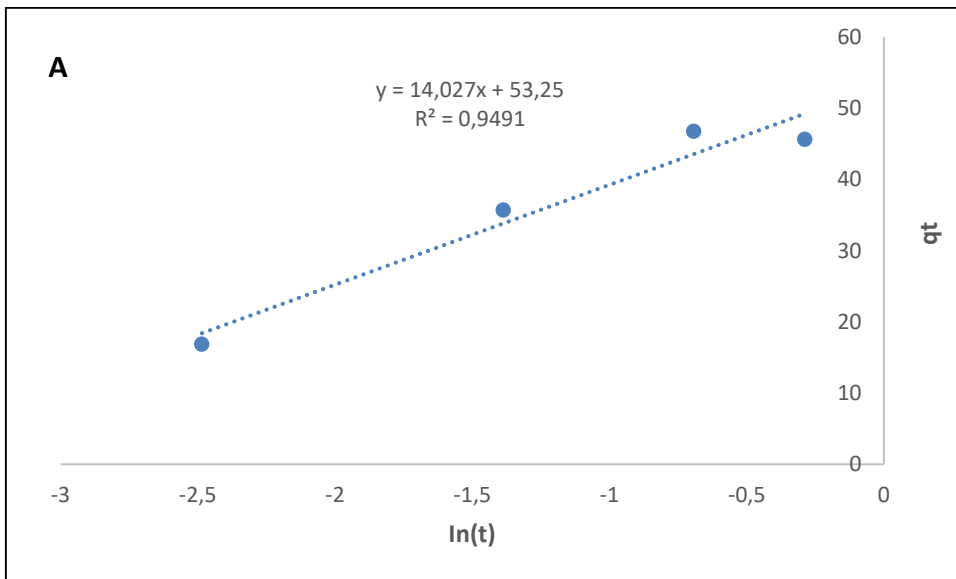


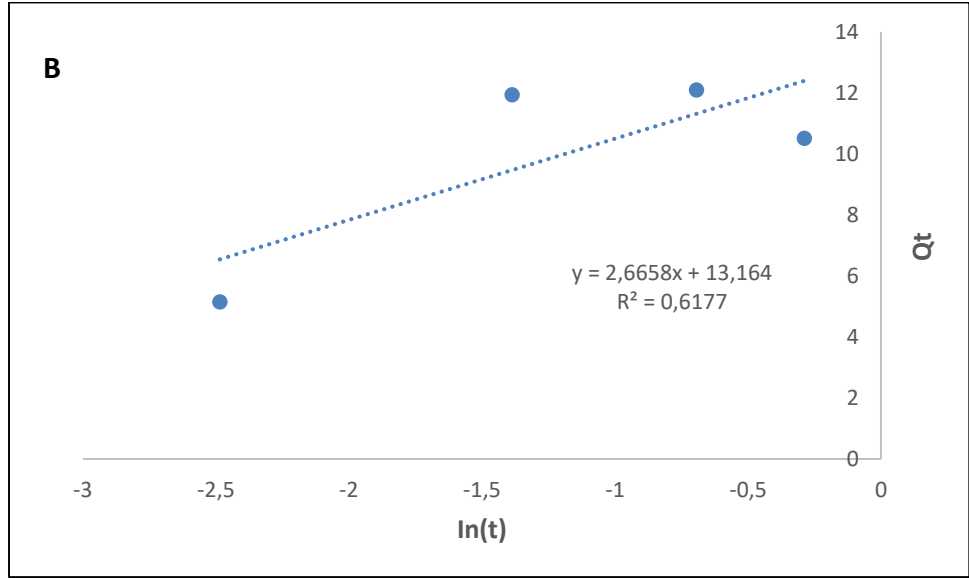


Şekil 4-23. A) SAM, B) FLU için yalancı ikinci mertebe kinetik modeli grafikleri

SAM için elde edilen grafiğin denklemi Şekil 4-23'de görüldüğü gibi $y = -0,0206x + 0,0017$, $R^2 = 0,9951$ 'dir. FLU için ise $y = 0,0909x + 0,0021$, $R^2 = 0,9948$ 'dir. Denklemlerin eğimi $1/q_e$ 'i; y eksenini kestiği nokta ise $1/k_2q_e^2$ 'i verdiği için SAM ve FLU için k_2 ve q_e değerleri grafik kullanarak hesaplandı.

Elovich eşitliği, Bölüm 3.6.1.1'de ifade edildiği gibi qt 'e karşı $\ln t$ grafiği çizildiği zaman grafiğin eğimi $1/\beta$; y eksenini kestiği nokta ise $(1/\beta)\ln(\alpha\beta)$ 'i ifade eder. SAM ve FLU için yarı ayrı yapılan hesaplamada elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.





Şekil 4-24. A) SAM, B) FLU için Elovich eşitliği grafikleri

Şekil 4-24’de görüldüğü gibi, SAM için elde edilen grafiğin denklemi $y=14,027x+53,25$, $R^2=0,9491$ ’dir. FLU için ise $y=2,6658x+13,164$, $R^2=0,6177$ ’dir. Denklemleri eğimi $1/\beta$; y eksenini kestiği nokta ise $(1/\beta)\ln(\alpha\beta)$ ’i ifade ettiği için SAM ve FLU’nun α ve β değerleri grafikler kullanarak hesaplandı.

SAM ve FLU için yalancı birinci mertebe kinetik model, yalancı ikinci mertebe kinetik model ve Elovich eşitliği ilgili kinetik parametrelere Çizelge 4-1 ve Çizelge 4-2’de verilmiştir.

Çizelge 4-1. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM’ın adsorpsiyon kinetik parametreleri

Yalancı Birinci Mertebe Kinetik Model			
$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{cal}} \text{ (mg/g)}$	$k_1 \text{ (1/h)}$	R^2
45.98	30.07	3.48	0.9015
Yalancı İkinci Mertebe Kinetik Model			
$q_{e, \text{exp}} \text{ (mg/g)}$	$q_{e, \text{cal}} \text{ (mg/g)}$	$k_2 \text{ (g/mg.h)}$	R^2
45.98	48.54	0.25	0.9951
Elovich Eşitliği			
$1/\beta \ln(\alpha\beta) \text{ (mg/g)}$	$\alpha \text{ (mg/gh)}$	$\beta \text{ (g/mg)}$	R^2
53.25	624.63	0.07	0.9491

Çizelge 4-2. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere FLU'nin adsorpsiyon kinetik parametreleri

Yalancı Birinci Mertebe Kinetik Model			
$q_{e, \text{exp}}$ (mg/g)	$q_{e, \text{cal}}$ (mg/g)	k_1 (1/h)	R^2
10.52	4.72	0.83	0.6834
Yalancı İkinci Mertebe Kinetik Model			
$q_{e, \text{exp}}$ (mg/g)	$q_{e, \text{cal}}$ (mg/g)	k_2 (g/mg.h)	R^2
10.52	11.01	3.94	0.9948
Elovich Eşitliği			
$1/\beta \ln(\alpha\beta)$ (mg/g)	α (mg/gh)	β (g/mg)	R^2
13.16	371.92	0.38	0.6177

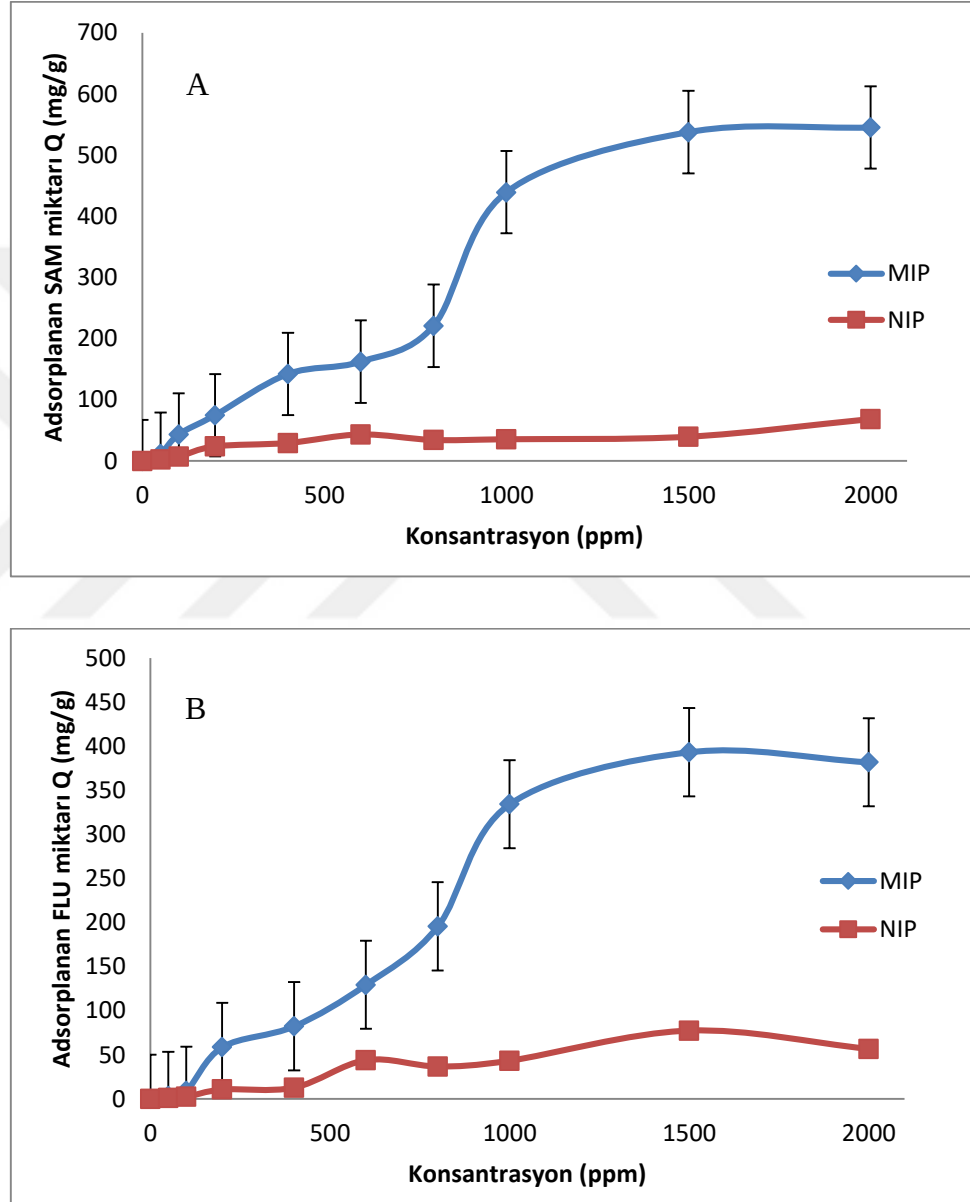
Çizelge 4-1'de elde edilen verilere göre salmeterol ksinafoat için yalancı ikinci mertebe kinetik modelin de uygun olduğu görülmektedir. Yalancı ikinci mertebe kinetik modelin korelasyon katsayısı diğer eşitliklerden daha büyük olup, $R^2 = 0.9951$ 'dir ve deneysel q_e değeri ile hesaplanan q_e değerinin ($q_{e(\text{cal})} = 48.54$ mg/g, $q_{e(\text{exp})} = 45.98$ mg/g) birbirleri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Yalancı ikinci mertebe kinetik model kemisorpsiyonu desteklemektedir.

Flutikazon propiyonat için de benzer durum söz konusu olup Çizelge 4-2'de görüldüğü gibi yalancı ikinci mertebe kinetik modelin korelasyon katyası en yüksek olup, $R^2 = 0.9948$ 'dir. Deneysel q_e değeri ile hesaplanan q_e değerinin ($q_{e(\text{cal})} = 11.00$ mg/g, $q_{e(\text{exp})} = 10.52$ mg/g) birbirleri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu nedenle flutikazon propiyonat adsorpsiyonu yalancı ikinci mertebe kinetik modele uygun olduğu ve kemisorpsiyon olduğu belirlenmiştir.

4.4.2 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında başlangınç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda başlangınç ilaç konsantrasyonunun etkisini incelemek için 50 ppm; 100 ppm; 200 ppm; 400 ppm; 600 ppm; 800 ppm; 1000 ppm; 1500 ppm; 2000 ppm SAM ve FLU içeren ilaç çözeltileri metanol içerisinde hazırlandı. Eppendorf tüplerine 50 μ L nanopartikül ve 450 μ L SAM ve FLU çözeltilerinden eklenip oda sıcaklığında (25°C) açılı karıştırıcıda 45 dakika karıştırıldı. Süre

sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm’de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC’de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı. SAM ve FLU baskılanmış nanopartikülün (MIP) ilaçlara olan spesifikliğini araştırmak için baskılanmamış nanopartikülle (NIP) de aynı koşullarda adsorpsiyon denemesi gerçekleştirildi.



Şekil 4-25. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere A) SAM, B) FLU adsorpsiyonuna başlangıç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi (T:45 dk; 25 °C)

Şekil 4-25’de görüldüğü gibi MIP nanopartiküllere salmeterol ksinafoat’ın adsorpsiyonu başlangıç SAM konsantrasyonu arttıkça arttığı ve 1500 ppm konsantrasyonunda adsorpsiyon değerinin dengeye geldiği görüldü. 1500 ppm’de

maksimum adsorpsiyon değeri 537,64 mg/g olarak bulundu. NIP nanopartiküllere salmeterol ksinafoat'ın adsorpsiyonunda da benzer davranış sergilediği ve 1500 ppm'deki maksimum adsorpsiyon değeri 39,80 mg/g olduğu belirlendi.

MIP nanopartiküllerine flutikazon propiyonat'ın adsorpsiyonunda ise başlangınç FLU konsantrasyonu arttıkça adsorpsiyon değeri (Q) arttığı, belirli bir konsantrasyondan sonra tüm bağlanma bölgelerinin dolup, adsorpsiyonun dengeye geldiği görülmüştür. Şekil 4-25'de görüldüğü gibi adsorpsiyonun 1500 ppm'de dengeye geldiği ve maksimum adsorpsiyon değerinin 393,32 mg/g olduğu belirlendi. NIP nanopartiküllere flutikazon propiyonat'ın adsorpsiyonunda da benzer davranışlar sergilediği ve 1500 ppm'deki maksimum adsorpsiyon değeri 77,39 mg/g olduğu görüldü.

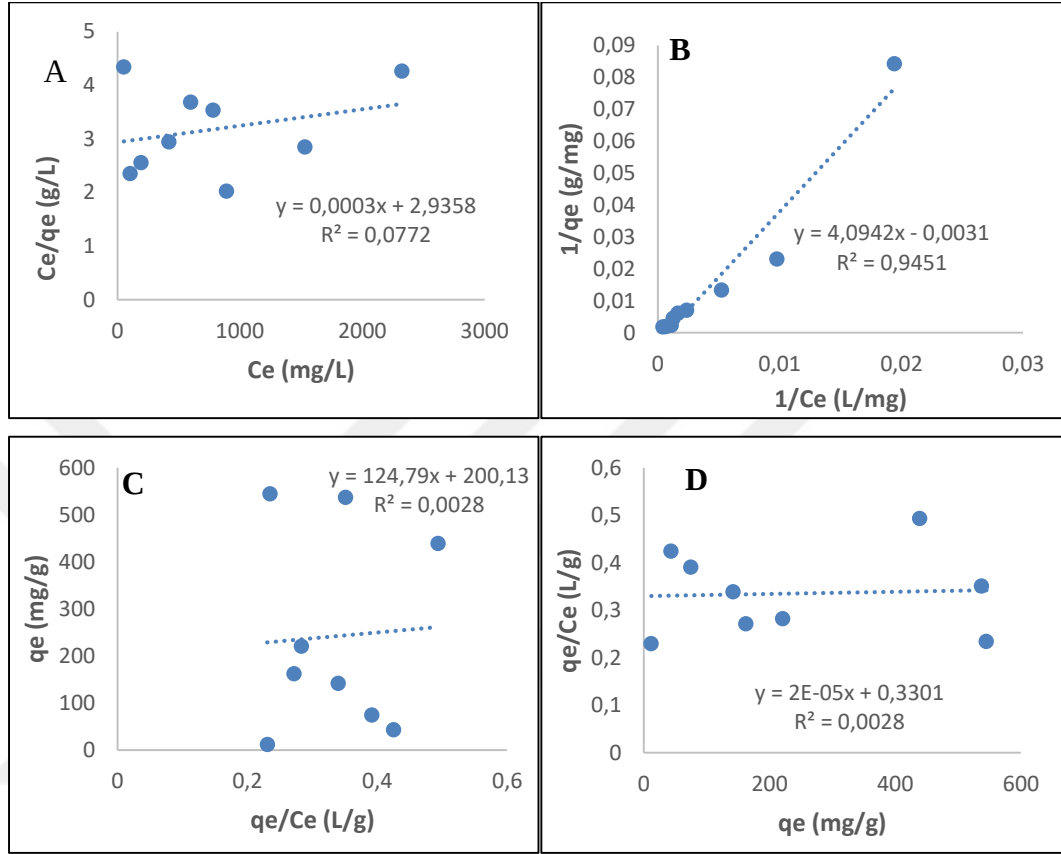
4.4.2.1 Adsorpsiyon izotermeleri

Adsorpsiyon izotermeleri adsorbent-adsorbant arasındaki etkileşimi anlaşılmasında önemlidir. Farklı izoterm modelleri kesikli sistemdeki adsorpsiyon şeklini ifade etmek için kullanılır. En yaygın kullanılan izotermeler Langmuir, Freundlich, Temkin ve Dubinin-Radushkevich izotermeleridir. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonlarının açıklanabilmesi için bu izoterm modelleri SAM ve FLU için ayrı ayrı hesaplandı.

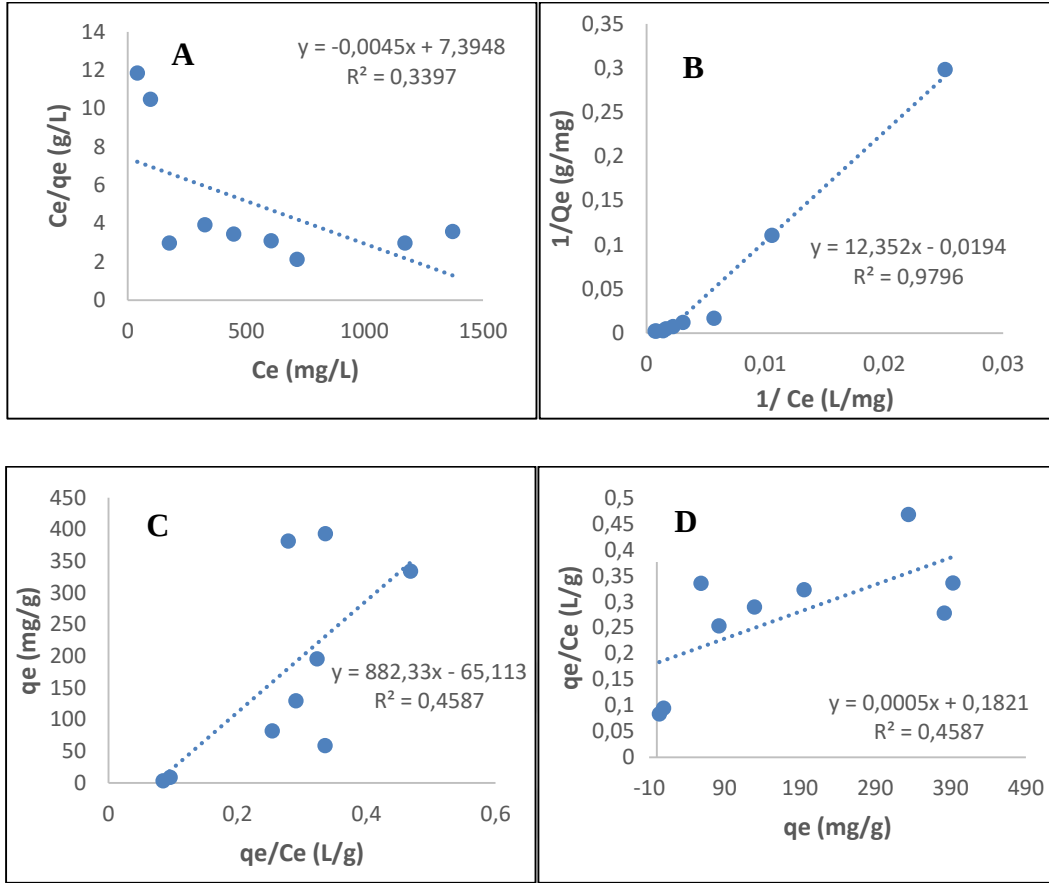
Langmuir izotermi, tek tabakalı adsorpsiyon ile adsorbanta özgü spesifik oyukların olduğunu ifade eder. Langmuir izotermine uygun davranış sergileyen adsorpsiyon sisteminde adsorbant yüzeydeki bağlanma bölgesine bağlandığı zaman diğer molekülün bağlanamaz ve adsorbentin tüm yüzeyini kaplayan adsorbantların eşit adsorpsiyon enerjisine sahiptir (Kayranlı 2011).

Langmuir izotermi Bölüm 3.6.2.1'de ifade edildiği gibi dört lineer formu bulunmaktadır. Langmuir tip (I) için, C_e/q_e karşı C_e grafiği çizildiğinde elde edilen grafiğin eğimi $1/q_m$, y eksenini kesim noktası ise $1/q_m K_L$ değerini verir. Langmuir tip (II) için, $1/q_e$ karşı $1/C_e$ grafik çizildiğinde grafiğin eğimi $1/(q_m K_L)$ değerini, doğrunun y ekseninin kestiği nokta ise $1/q_m$ değerini verir. Langmuir tip (III) için, q_e 'e karşı q_e/C_e grafik çizildiği zaman grafiğin eğimi $-1/K_L$ değerini, doğrunun y eksenini kestiği nokta ise q_m değerini verir. Langmuir tip (IV) için q_e/C_e 'e karşı q_e

grafığı çizildiği zamani garfığın eğimi $-K_L$ değeri, doğrunun y eksenini kestiği nokta ise $K_L q_m$ değeri verir. SAM ve FLU için yapılan ayrı ayrı hesaplamalardan elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 4-26. Salmeterol ksinafoat'ın Langmuir izoterm grafiği A) Langmuir tip (I), B) Langmuir tip (II), C) Langmuir tip (III), D) Langmuir tip (IV) grafikleri

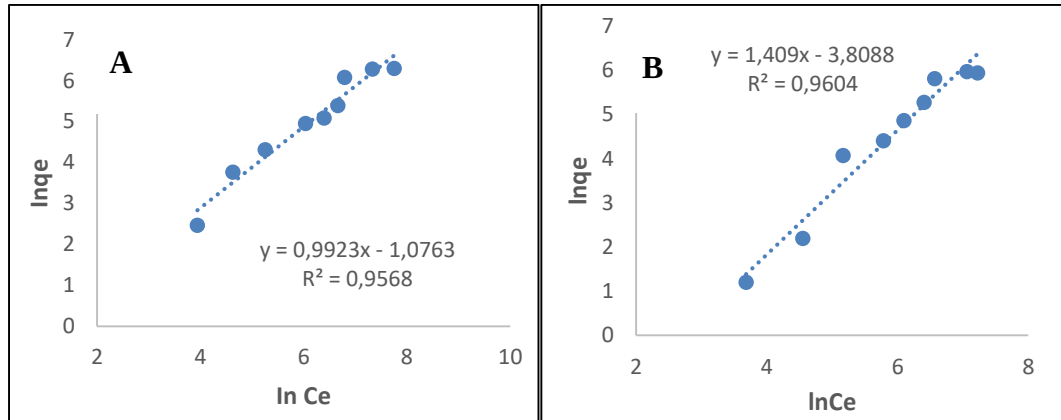


Şekil 4-27. Flutikazon propiyonat'ın Langmuir izoterm grafiği A) Langmuir tip (I), B) Langmuir tip (II), C) Langmuir tip (III), D) Langmuir tip (IV) grafikleri

Salmeterol ksinafoat için Langmuir izotermi dört farklı türüne ait hesaplamalar yapıldı, Şekil 4-27'de belirtildiği grafikler elde edildi. Kolerasyon katsayısı en yüksek olan Langmuir Tip (II)'nin denklemi kullanarak izoterm parametreleri hesaplanmıştır. Benzer davranış flutikazon propiyonat'ın adsorpsiyon hesaplarında da gözlenmiştir. Kolerasyon katsayısı en yüksek olan Langmuir Tip (II)'nin denklemi kullanarak izoterm parametreleri hesaplanmıştır. Langmuir tip (II) izotermi grafiğinde SAM için, $y=4,0942x-0,0031$, $R^2=0,9451$ denklemi elde edildi. FLU için ise Langmuir (II) izotermi grafiğinde $y=12,352x-0,0194$, $R=0,9796$ denklemi elde edildi. Denklemlerin eğimi $1/(q_m K_L)$ değerini, doğrunun y eksenini kestiği nokta ise $1/q_m$ ifade ettiği için SAM ve FLU'nun q_m , K_L değerleri hesaplanmıştır.

Freundlich izotermisi ise Langmuir izotermi aksine çok tabakalı adsorpsiyon modelini tanımlamaktadır. Bölüm 3.6.2.1'de verildiği gibi Freundlich izotermi eşitliğinde $\ln q$ karşı $\ln C_e$ grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimi $(1/n)$,

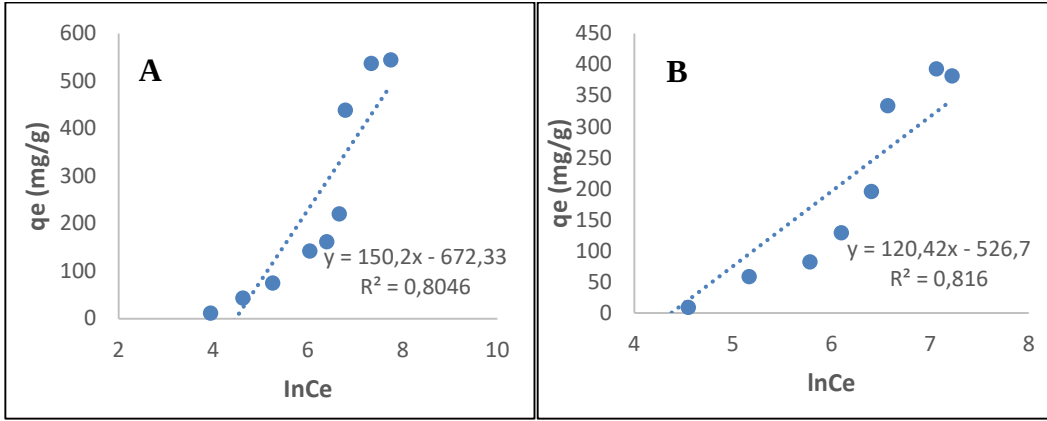
y eksenini kestiği nokta ise $\ln K_F$ değerini verir. SAM ve FLU için yapılan ayrı ayrı hesaplamalardan elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 4-28. A) Salmeterol ksinafoat'ın, B) Flutikazon propiyonat'ın Freundlich izoterm grafiği

Şekil 4-28'de görüldüğü gibi, SAM için elde edilen Freundlich izoterm grafiğinin denklemi $y=0,9923x-1,0763$, $R^2=0,9568$ 'dir. FLU için ise $y=1,409x-3,8088$, $R^2=0,9604$ 'dir. Denklemlerin eğimi ($1/n$), y eksenini kestiği nokta ise $\ln K_F$ değerini verdiği için SAM ve FLU için ayrı ayrı n ve K_F değerleri hesaplandı.

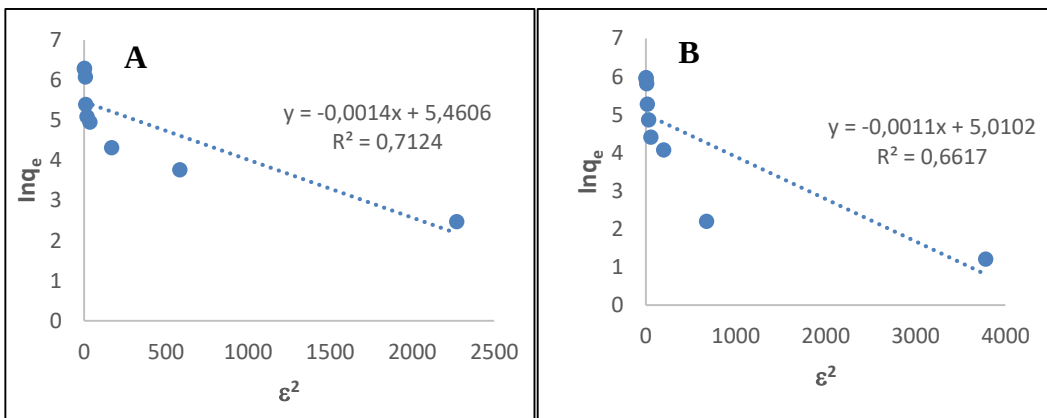
Temkin eşitliği, adsorpsiyon izotermindeki bazı direk adsorbat-adsorbat etkileşimli ilişkinin etkisine dayanır, adsorbe olan maddeler arasındaki ilişkiyi değerlendirir. Bu etkileşimlerden dolayı, adsorbent yüzeyindeki tüm moleküllerin kaplanmasıyla, adsorpsiyon ısısı algoritmikden ziyade lineer olarak azalacağını ifade eder (Kayranlı 2011; Erkurt ve Balcı 2015). Bölüm 3.6.2.1'de belirtildiği gibi q_e karşılık $\ln C_e$ grafiği çizildiği zaman, grafiğin eğimi B (RT/b_T) değerini; y eksenini kestiği nokta ise $B(RT/b_T)\ln K_T$, değerini verir. SAM ve FLU için yapılan ayrı ayrı hesaplamalardan elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 4-29. A) SAM, B) FLU'nun Tempkin izoterm grafikleri

Şekil 4-29'da gösterildiği gibi, SAM için elde edilen Tempkin izoterm grafiğinin denklemi $y=150,2x-672,33$, $R^2=0,8046$ 'dır. FLU için ise $y=120,42x-526,7$, $R^2=0,816$ 'dır. Denklemlerin eğimi B (RT/b_T) değerini; y eksenini kestiği nokta ise $B(RT/b_T)\ln K_T$, değerini verdiği için SAM ve FLU için ayrı ayrı hesaplama yaparak b_T ve K_T , değerleri hesaplandı.

Dubinin-Radushkevich izoterminde ise Langmuir izotermine aksine çok tabakalı adsorpsiyon modeli sergilediğini varsayılır. Adsorpsiyonun serbest enerjisini hesaplamada kullanılır (Kayranlı 2011; Erkurt ve Balcı 2015; Keleş et.al., 2015). Bölüm 3.6.2.1'de ifade edildiği gibi $\ln q_e$ karşılık ϵ^2 grafik çizildiği zaman, grafiğin eğimi β 'u, y eksenini kestiği nokta ise $\ln q_m$ değerini verir. SAM ve FLU için yapılan ayrı ayrı hesaplamalardan elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 4-30. A) SAM, B) FLU'nun Dubinin-Radushkevich izoterm grafikleri

Şekil 4-30'da belirtildiği gibi, SAM için elde edilen Dubinin-Radushkevich izoterm grafiğinin denklemi $y=-0,0014x+5,4606$, $R^2=0,7124$ 'dir. FLU için ise

$y = -0,0011x + 5,0102$ $R^2 = 0,6617$ 'dir. Denklemin eğimi β 'u, y eksenini kestiği nokta ise $\ln q_m$ değerini verdiği için SAM ve FLU için ayrı ayrı hesaplama yaparak β ve q_m değerleri hesaplandı. Salmeterol ksinafoat için adsorpsiyon izoterm parametreleri aşağıdaki gibidir.

Çizelge 4-3 Salmeterol ksinafoat için adsorpsiyon izoterm parametreleri

Deneysel	Langmuir Tip (II) İzotermi			Freundlich İzotermi			İzoterm Şekli
q_{ex} (mg/g)	q_m (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2	K_f (mg/g)(L/g) ^{1/n}	n	R^2	R_L
545.2791	322.5806	0.0008	0.9451	2.9338	1.0078	0.9512	$0 < R_L < 1$; istemli
Temkin İzotermi				Dubinin-Radushkevich İzotermi			
K_T (L/mg)	b_T	B (J/mol)	R^2	q_m (mg/g)	β (mol ² /J ²)	E (kJ/mol)	R^2
87.9	0.0606	150.2	0.8046	222.7388	0.0014	18.8982	0.7124

Çizelge 4-4. Flutikazon propiyonat için adsorpsiyon izoterm parametreleri

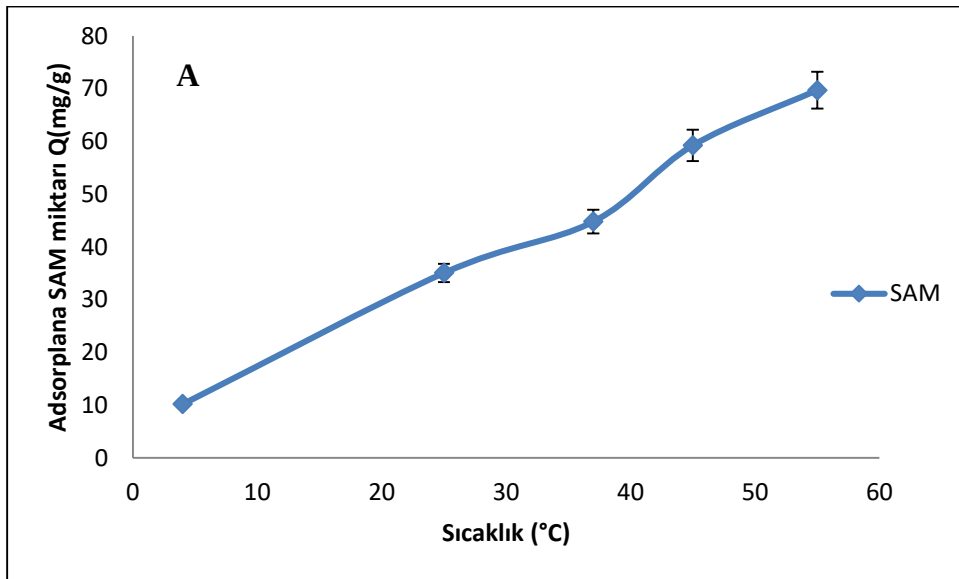
Deneysel	Langmuir Tip (II) İzotermi			Freundlich İzoterm			İzoterm Şekli
q_{ex} (mg/g)	q_m (mg/g)	K_L (L/mg)	R^2	K_f (mg/g)(L/g) ^{1/n}	n	R^2	R_L
381.8818	51.5464	0.0015	0.9796	45.0963	0.7097	0.9604	$0 < R_L < 1$; istemli
Temkin İzoterm				Dubinin-Radushkevich İzoterm			
K_T (L/mg)	b_T	B (J/mol)	R^2	q_m (mg/g)	β (mol ² /J ²)	E (kJ/mol)	R^2
79.3525	0.0486	120.4200	0.816	149.9347	0.0011	21.3201	0,6617

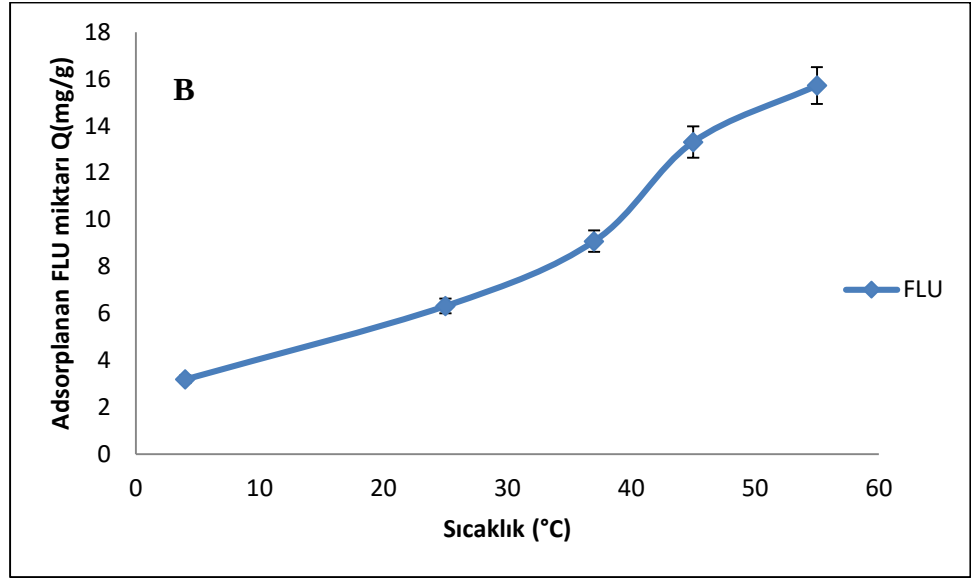
MIP nanopartiküllere salmeterol ksinafoatın ve flutikazon propiyonatın adsorpsiyon izoterm modellerin hesaplarına (Çizelge 4-3 ve Çizelge 4-4'e

görüldüğü gibi) bakıldığında ve elde edilen grafiklere bakıldığında her iki etken madde de düşük konsantrasyonda langmuir izotermine uygun davranış sergilediği, konsantrasyon arttıkça tabakalı adsorpsiyon sergilediği görülmüştür. Bu nedenler her iki etken madde için de Langmuir tip(II) ve Freundlich izoterm modellerinin R^2 değerleri birbirine yakın çıkmıştır. Ayrıca, Dubinin-Radushkevich izotermine enerji değerinin (E) 8 kJ/mol'den büyük olması kemisorpsiyonun varlığını gösterir. Adsorpsiyon kinetiğinde yalancı ikinci mertebe kinetik modelle uygun olmasını desteklemektedir.

4.4.3 SAM ve FLU adsorpsiyonlarında sıcaklığın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda sıcaklığın etkisini incelemek için 4°C-25°C-37°C-45°C-55°C derecelerinde adsorpsiyon çalışması yapıldı. Eppendorf tüplerine 50 µL nanopartikül ve 450 µL metanol içerisinde hazırlanan 100 ppm SAM-FLU çözeltisinden eklenip 4°C-25°C-37°C-45°C-55°C derecelerinde 45 dk karıştırıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve üst fazlarında SAM ve FLU miktarı HPLC'de analiz edildi. Elde edilen sonuçlara göre SAM ve FLU için ayrı gram nanopartikül başına bağlanan SAM ve FLU miktarları (Q (mg/g) değeri) eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.



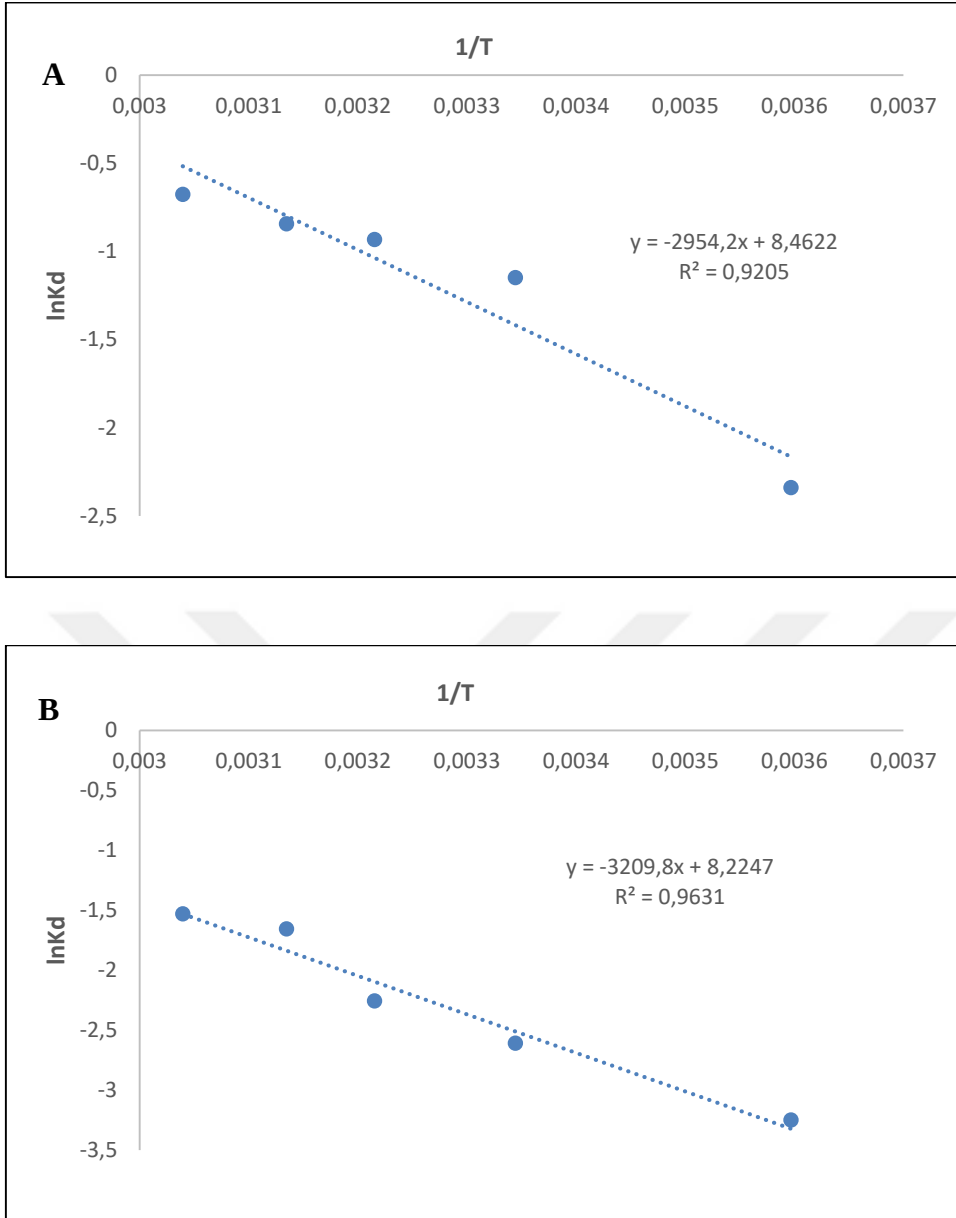


Şekil 4-31. SAM-FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllere A) SAM ve B) FLU adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi (100 ppm SAM ve FLU; 45 dakika)

Şekil 4-31’de görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça SAM ve FLU adsorpsiyonunda artış görülmüştür. SAM ve FLU moleküllerin MIP nanopartiküllerine adsorpsiyonunda van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimlerin hakim olduğu düşünülmektedir. Sıcaklık arttıkça bu kuvvetlerde de artış görülmektedir. Bu nedenle MIP nanopartiküllere adsorplanan SAM ve FLU miktarlarında da artış görülmektedir. 55°C sıcaklıkta, 100 ppm SAM ve FLU konsantrasyonlarında adsorplanan maksimum SAM miktarı 69,71 mg/g, FLU miktarı ise 15,73 mg/g olarak belirlenmiştir.

4.4.3.1 Adsorpsiyon termodinamikleri

Termodinamik parametreleri, adsorpsiyonla ilişkili kendiliğinden oluşan enerjisel değişiklikler hakkında derinlemesine bilgi edinilmesini sağlar. Bu nedenle uygun bir şekilde değerlendirilmelidir (Wu 2007). Adsorpsiyon süreci hakkında yorum yapabilmek için Gibbs serbest enerji değişimi (ΔG°), entalpi değişimi (ΔH°) ve entropi değişimi (ΔS°) değerleri hesaplandı. Bölüm 2.6.3.1’de belirtilen denklemler kullanarak hesaplama yapıldı. $1/T$ ’e $\ln K_d$ grafiği çizildiği zaman, denklemin eğimi $-\Delta H/R$ ’i, y eksenini kestiği nokta ise $\Delta S/R$ ’i ifade eder. SAM ve FLU için yapılan ayrı ayrı hesaplamalardan elde edilen grafikler aşağıdaki gibidir.



Şekil 4-32. A) Salmeterol ksinafoat'ın, B) Flutikazon propiyonat'ın adsorpsiyon termodinamiği grafiği

Şekil 4-32'de görüldüğü gibi, SAM için elde edilen adsorpsiyon termodinamiği grafiğinin denklemi $y = -2954,2x + 8,4622$, $R^2 = 0,9205$ 'dir. FLU için elde edilen adsorpsiyon termodinamiği grafiğinin denklemi ise $y = -3209,8x + 8,2247$, $R^2 = 0,9631$ 'dir. Denklemin eğimi $-\Delta H/R$ 'i, y eksenini kestiği nokta ise $\Delta S/R$ 'i ifade ettiği için ΔH ve ΔS değerleri bu denklemler kullanılarak hesaplandı. Gibbs serbest enerjisi ise $\Delta G^\circ = \Delta H - T\Delta S$ denklemi kullanılarak hesaplandı. Salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat için ayrı ayrı hesaplandı. Çizelge 4-5 ve Çizelge 4-6'da termodinamik parametreleri gösterilmektedir.

Çizelge 4-5. Salmeterol ksinafoat'ın çeşitli sıcaklıklardaki termodinamik parametreleri

ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (J/Kmol)	ΔG° (kJ/mol)				
		278 K	299 K	311 K	319 K	329 K
24,561	70,355	4,99	3,511	2,667	2,103	1,399

Çizelge 4-6. Flutikazon propiyonat'ın çeşitli sıcaklıklardaki termodinamik parametreleri

ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (J/Kmol)	ΔG° (kJ/mol)				
		278 K	299 K	311 K	319 K	329 K
26,686	68,38	7,676	6,240	5,420	4,873	4,189

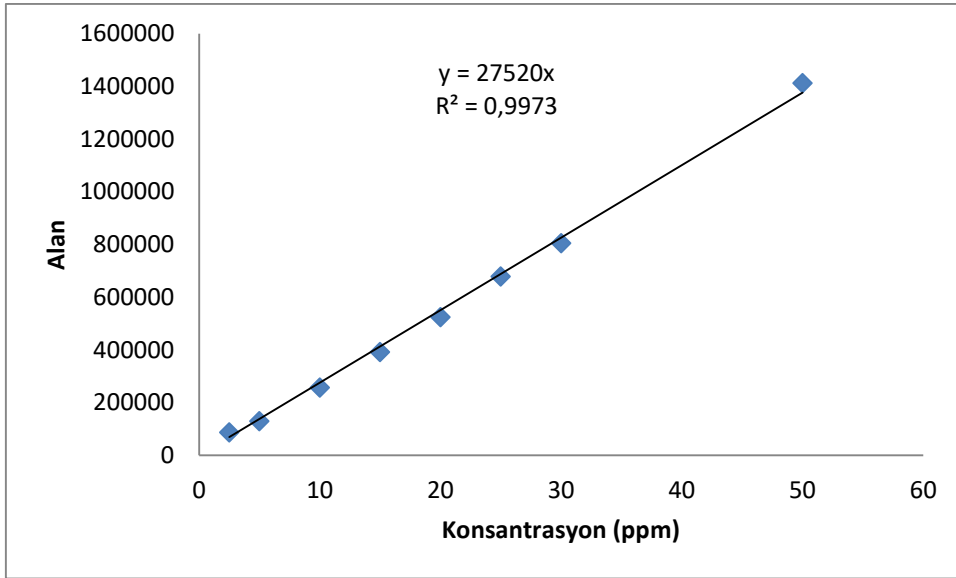
Elde edilen sonuçlara göre (Çizelge 4-5 ve Çizelge 4-6'ya göre) pozitif entalpi değeri SAM ve FLU adsorpsiyonların endotermik olduğunu ve yüksek sayısal değeri kemisorpsiyonu şeklinin olduğunu belirtir. Dubinin-Radushkevich izoterm inde enerji değeri ve adsorpsiyon kinetiğinde yalancı ikinci mertbe kinetik modellerle uygun olmasını kemisorpsiyonu desteklemektedir. Pozitif entropi, katı/sıvı ara yüzeyinde rastgeleliğin arttığının göstergesidir (Mohanta and Ahmaruzzaman 2018). Pozitif Gibbs serbest enerjisi değeri ise, adsorpsiyonların istemsiz olduğunu ifade eder (Keleş et.al., 2015).

4.5 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin Seçicilik Denemeleri

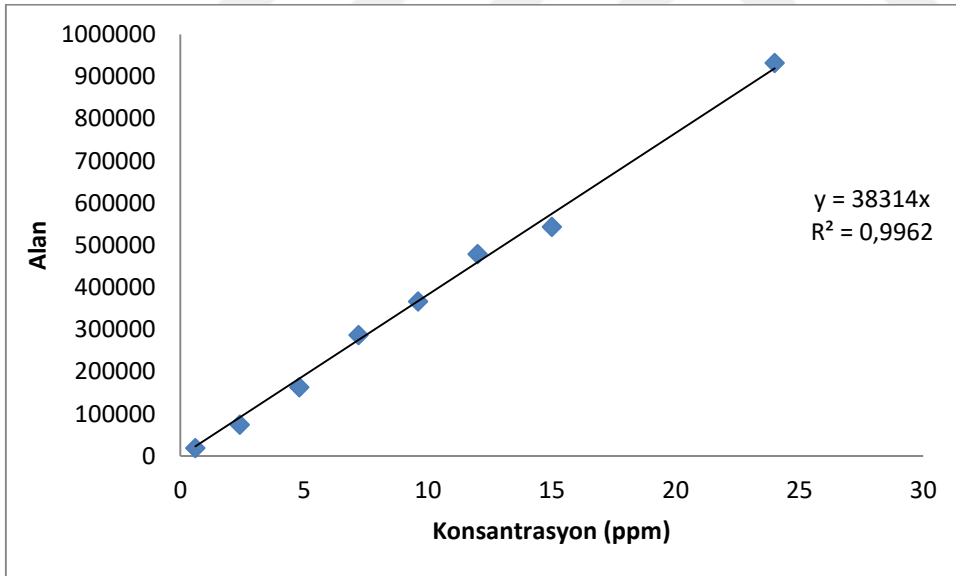
SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin ilaçlara olan spesifikliğin araştırma için SAM ve FLU'ya yapısal olarak benzeyen astım hastalığının tedavisinde kullanılan budesonid (BS) ve formoterol fumarat (FF) seçidi.

Budesonid ve formoterol fumaratı analiz etmek için literatürde belirtilen yöntemler modifiye edilerek kullanıldı (Assi et al., 2006; Pai ve Patil 2013). Budesonid'in HPLC'de analizinde mobil faz olarak ACN: 0,025M pH 3,0 tampon (60:40 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı 1,5mL/dk; sıcaklık 30 °C olarak ayarlandı. 247 nm dalga boyunda analiz edildi. Formoterol fumarat'ta ise mobil faz olarak ACN: 0,025 M pH 3,0 tampon (20:80 %, v/v) kullanıldı. Akış hızı 1,5mL/dk; sıcaklık

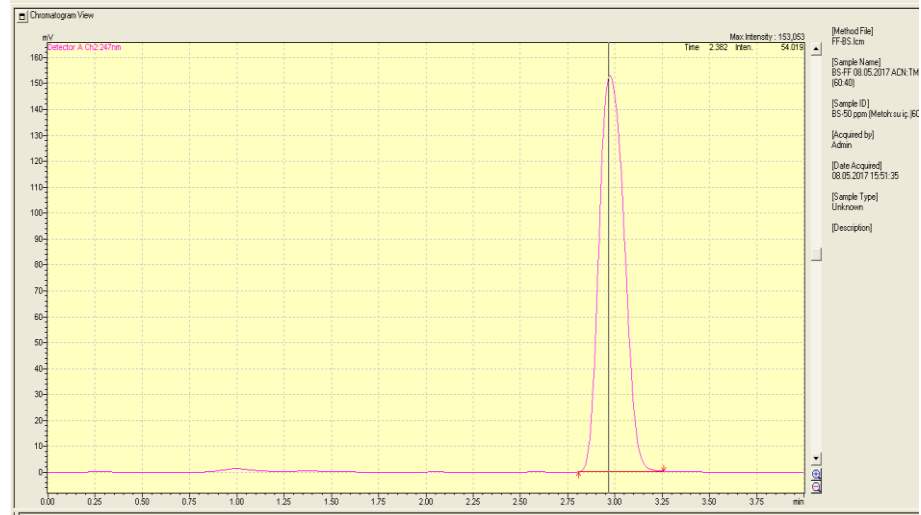
30 °C olarak ayarlandı. 220 nm dalga boyunda analiz edildi, standart grafikleri çizildi.



Şekil 4-33. Budesonid'in kalibrasyon grafiği (Mobil faz: ACN: 0,025M pH 3,0 tampon (60:40 %); Akış hızı: 1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C; 247 nm dalga boyunda)



Şekil 4-34. Formoterol fumaratı'n kalibrasyon grafiği (Mobil faz: ACN: 0,025M pH 3,0 tampon (20:80 %); Akış hızı: 1.5 mL/dk; sıcaklık 30 °C; 220 nm dalga boyunda)



Şekil 4-35. 50 ppm budesonid standart çözeltisinin kromatogramı (Alıkonma zamanı: 2.954)



Şekil 4-36. 24 ppm formeterol fumat standart çözeltisinin kromatogramı (Alıkonma zamanı: 5.149)

Seçicilik denemesi için MIP ve NIP nanopartiküllerine BS ve FF adsorpsiyonu denemesi gerçekleştirildi. Bunun için metoh:su (50:50) içinde 100 ppm BS çözelti ve su içerisinde 96 ppm FF çözeltisi hazırlandı. Adsorpsiyon için 25°C’de 45 dk açılı karıştırıcıda karıştırıldı. Adsorpsiyon sonrasında santrifüjde 14500 rpm’de 20 dk çöktürüldü, üst fazında HPLC’de BS ve FF tayini yapıldı. Bölüm 3,7 belirtildiği gibi budesonid ve formoterol fumarat için salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat göre dağılma, seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları hesaplandı.

Çizelge 4-7. Salmeterol ksinafoat'ın ve flutikazon propiyonat'ın dağılma, seçicilik ve bağlı seçicilik katsayıları

SAM'a göre					
İlaç	NIP		MIP		
	Kd	k	Kd	k	k'
SAM	67.272	-	425.030	-	
BS	12.338	5.4523	43.444	9.783	1.794
FF	105.461	0.638	240.563	1.767	2.770
FLU' a göre					
İlaç	NIP		MIP		
	Kd	k	Kd	k	k'
FLU	26.481	-	95.332	-	
BS	12.338	2.147	43.444	2.194	1.022
FF	105.461	0.251	240.563	0.396	1.578

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SAM'ın BS molekülüne göre 9,78 kat, FF molekülüne göre 1,77 kat seçici olduğu; FLU'nun ise BS göre 2,19 kat, FF molekülüne göre 0,40 kat seçici olduğu belirlendi.

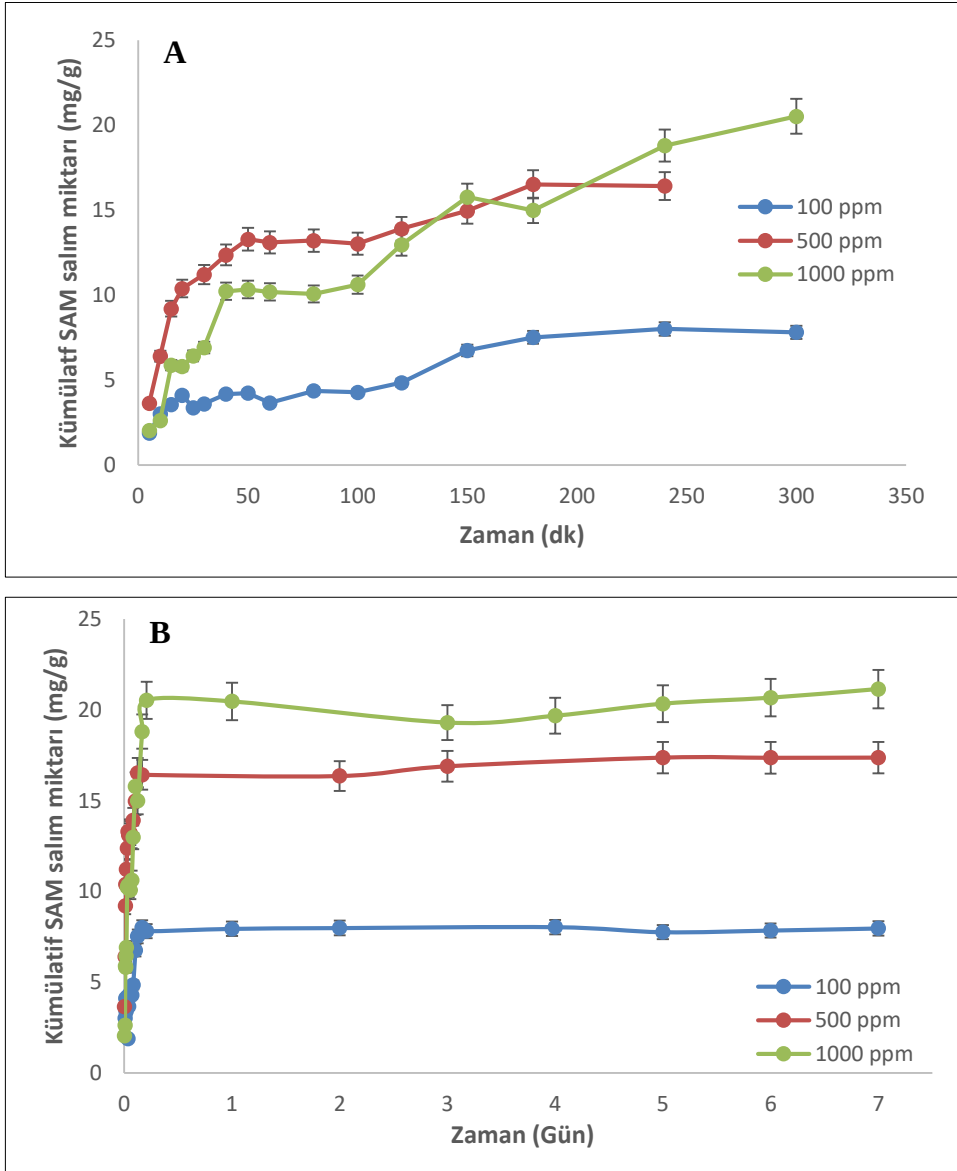
4.6 SAM ve FLU'nun In Vitro Salım Denemeleri

MIP nanopartiküllerinden SAM ve FLU'nun salım koşullarını optimize etmek için yüklenen SAM ve FLU konsantrasyonunun, sıcaklığın ve pH etkisi incelendi.

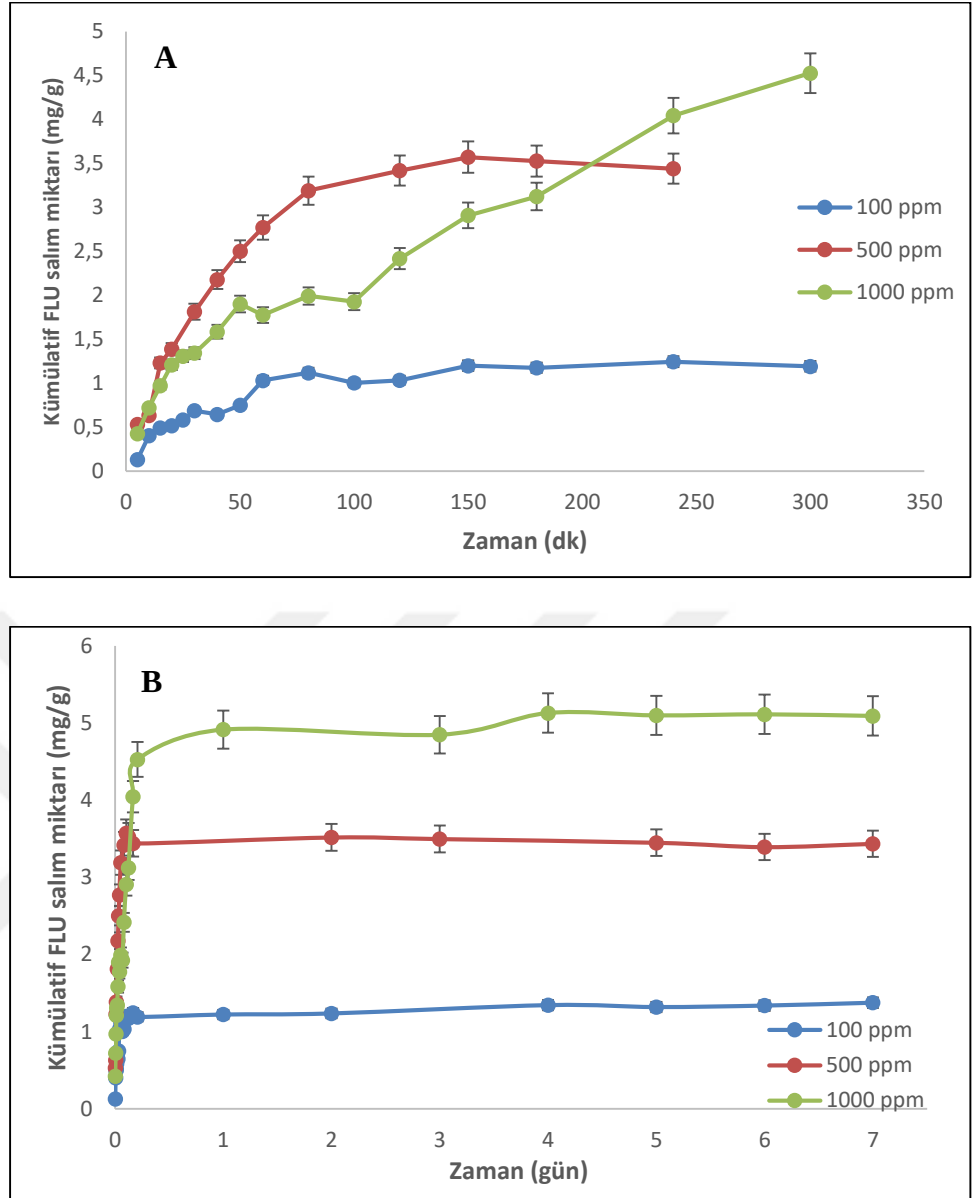
4.6.1 SAM ve FLU salımında başlangınç SAM ve FLU konsantrasyonlarının etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında başlangınç konsantrasyonunun etkisini incelemek için 100ppm; 500 ppm ve 1000 ppm konsantrasyonlarında yüklü nanopartikül kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 µL nanopartikül ile 800 µL ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için

ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm’de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 µL 10mM pH 7,4 fosfat tamponundan ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da 6 mL 10mM pH 7,4 fosfat tamponu içeren vialler içerisine konulup, 37°C’de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5’er dakika, daha sonra bir saate kadar 10’ar dakikada, ikinci saate kadar 20’şer dakikada, üçüncü saate kadar 30’şar dakikada, beşinci saate kadar 60’şar dakikada bir 500 µL örnek alım yerine 500 µL taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 µm’lik membranlardan filtre edilerek HPLC’de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (Bölüm 4,4’de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 µm’lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 4-37. SAM'ın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında başlangıç konsantrasyonunun etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları 37°C', 10 mM fosfat tamponu, pH:7,4)

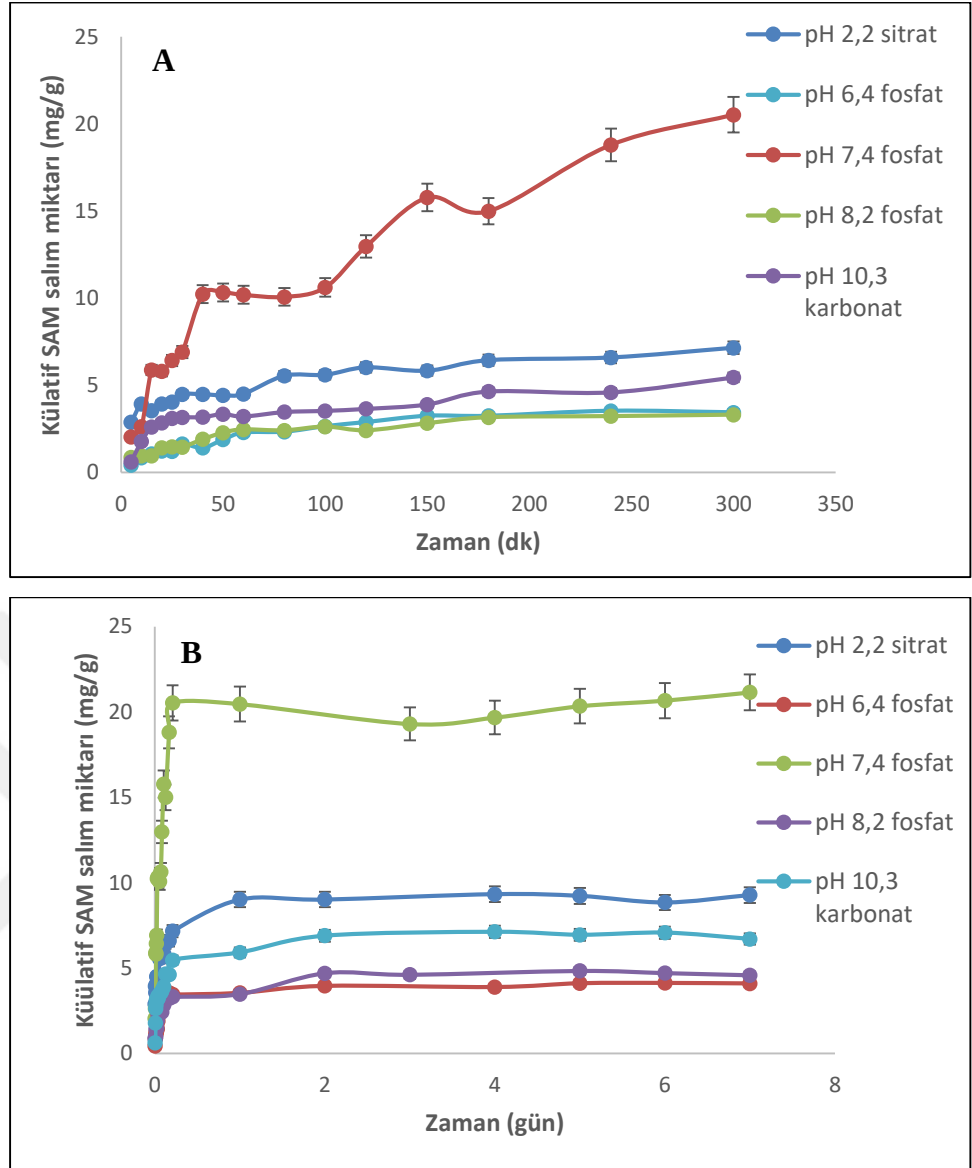


Şekil 4-38. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında başlangınç konsantrasyonunun etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içerisindeki salımı (Yükleme koşulları: 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları 37°C, 10 mM fosfat tamponu, pH:7,4)

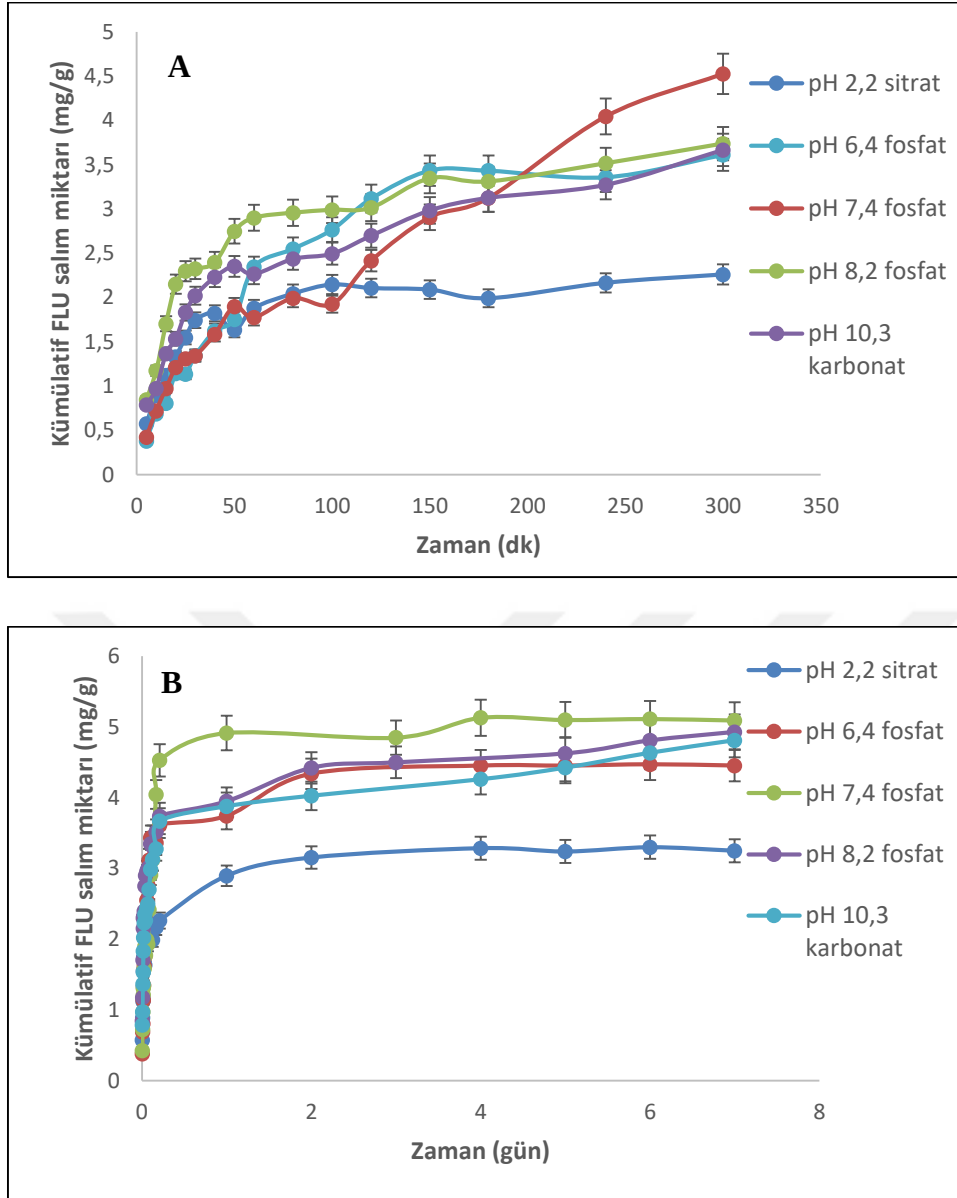
Elde edilen sonuçlara göre MIP nanopartiküllere yüklenen ilaç miktarı arttıkça salınan ilaç miktarlarında da artış görülmüştür. En yüksek salım değerlerinin 1000 ppm SAM ve FLU yüklü MIP nanopartiküllerde olduğu belirlenmiştir. MIP nanopartikülüne yüklenen ilaç miktarı arttıkça salınan ilaç miktarlarında da artış görülmüştür. 1000 ppm ilaç yüklü MIP nanopartiküllerden 7 günün sonunda salınan SAM miktarı 21,15 mg/g olarak; salına FLU miktarı ise 5,09 mg/g olarak tespit edilmiştir.

4.6.2 SAM ve FLU salımında pH'ın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında pH'ın etkisini incelemek için pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponu içerisinde salım denemeleri gerçekleştirildi. Yükleme için eppendorf tüplerine 200 μ L nanopartikül ile 800 μ L, 1000 ppm SAM ve FLU çözeltileri eklendi, 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 μ L 10 mM pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponlarından ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da sırasıyla 6 mL 10mM pH 2,2 sitrat; pH 6,4 fosfat; pH 7,4 fosfat; pH 8,2 fosfat ve pH 10,4 karbonat tamponları içeren vialler içerisine konulup, 37°C'de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 μ L örnek alım yerine 500 μ L taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (bölüm 3,5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 μ m'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 4-39. SAM'ın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında pH'nın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 1000 ppm, 37°C, 45 dk, meranol içerisinde; Salım koşulları: 37°C)



Şekil 4-40. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında pH'nin etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 1000 ppm, 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları 37°C'de)

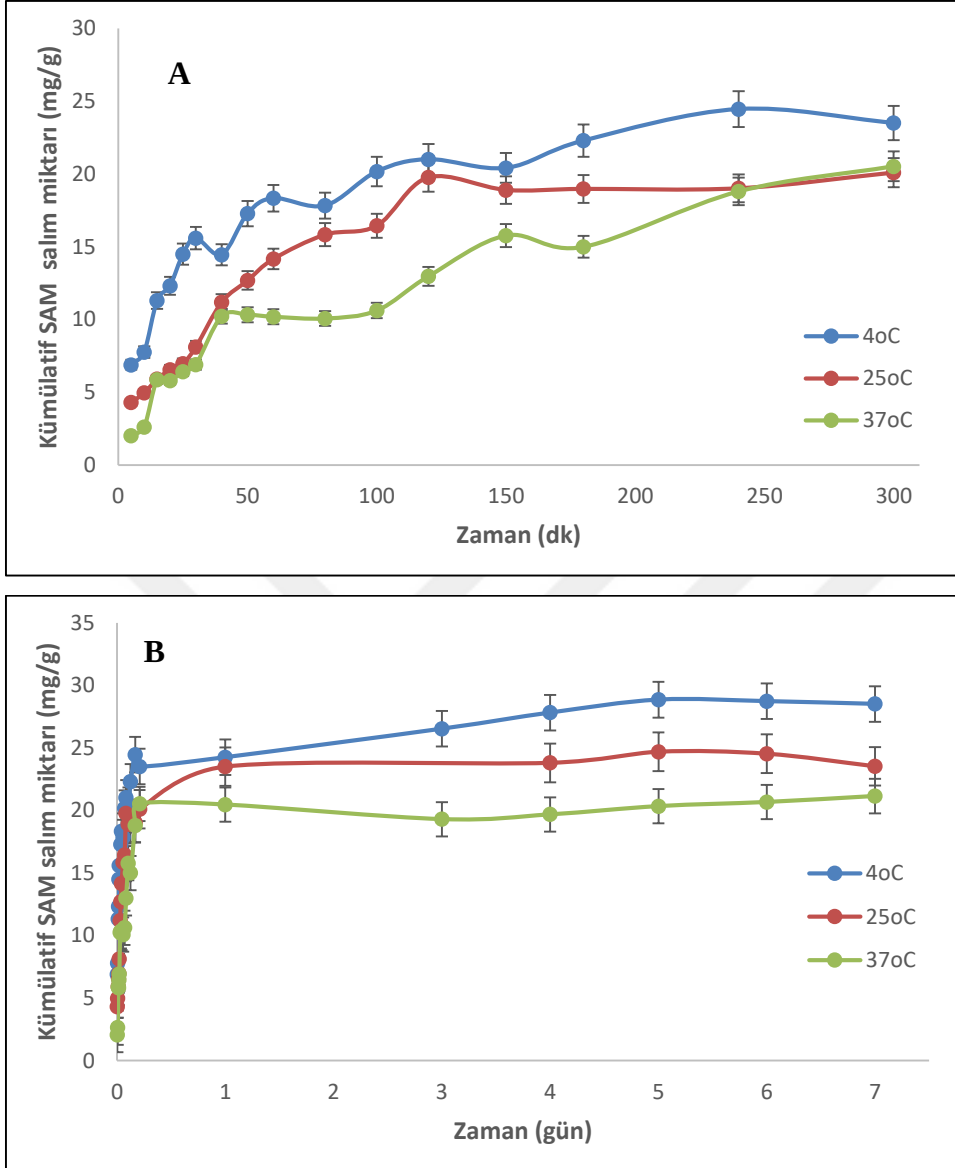
Şekil 4-39'de görüldüğü gibi MIP nanopartiküllerden salmeterol ksinafoatın en yüksek salımı pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde iken gözlemlendi ve 7. günün sonunda salınan salmeterol ksinafoat miktarı 21.15 mg/g olarak belirlendi. MIP nanopartiküllerin sentezinde SAM ile MAAL monomeri arasında hidrojen bağı, van der Waals ve hidrofobik etkileşimlerin baskın olduğu düşünülmektedir. pH 6,4'te en düşük salım miktarı görülmektedir. MIP nanopartiküllerin sentezinde kalıp oluşturdıkları pH değeri 6,4 olduğu için bu pH değerinde kalıbın nanopartikül üzerindeki oyuğa bağlanması için en uygun konformasyondadır. Bu nedenle pH 6,4 değerinde en düşük salım değeri görüldüğü düşünülmektedir.

Benzer şekilde, MIP nanopartiküllerden flutikazon propiyonatın en yüksek salımı pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde gözlemlendi ve 7. günün sonunda salınan flutikazon propiyonat miktarı 5.09 mg/g olarak belirlendi. MIP nanopartiküllerin sentezinde FLU ile MAH monomeri arasında elektrostatik etkileşimler ve hidrojen bağları etkin olduğu varsayılmaktadır. MAH monomerinin sahip olduğu imidazol grubunun pKa değeri 6,0'dır. Bu nedenle, pH 6,0'dan daha düşük pH değerlerinde pozitif yüklüdür. Bu sayede elektrostatik etkileşimler artmakta ve salım miktarları azalmaktadır. pH 6,4 değeri, nanopartikül sentezlendiği pH değeri olduğu için kalıbın oyuğa bağlanabileceği en uygun konformasyondadır ve bu pH değerinde salım miktarı düşüktür. pH değerinin yüksek olduğu salım ortamlarında ise imidazol grubu yüksüz olup bağlanmada hidrojen bağları etkilidir. Bu nedenle pH değeri arttıkça salım miktarı da artmaktadır.

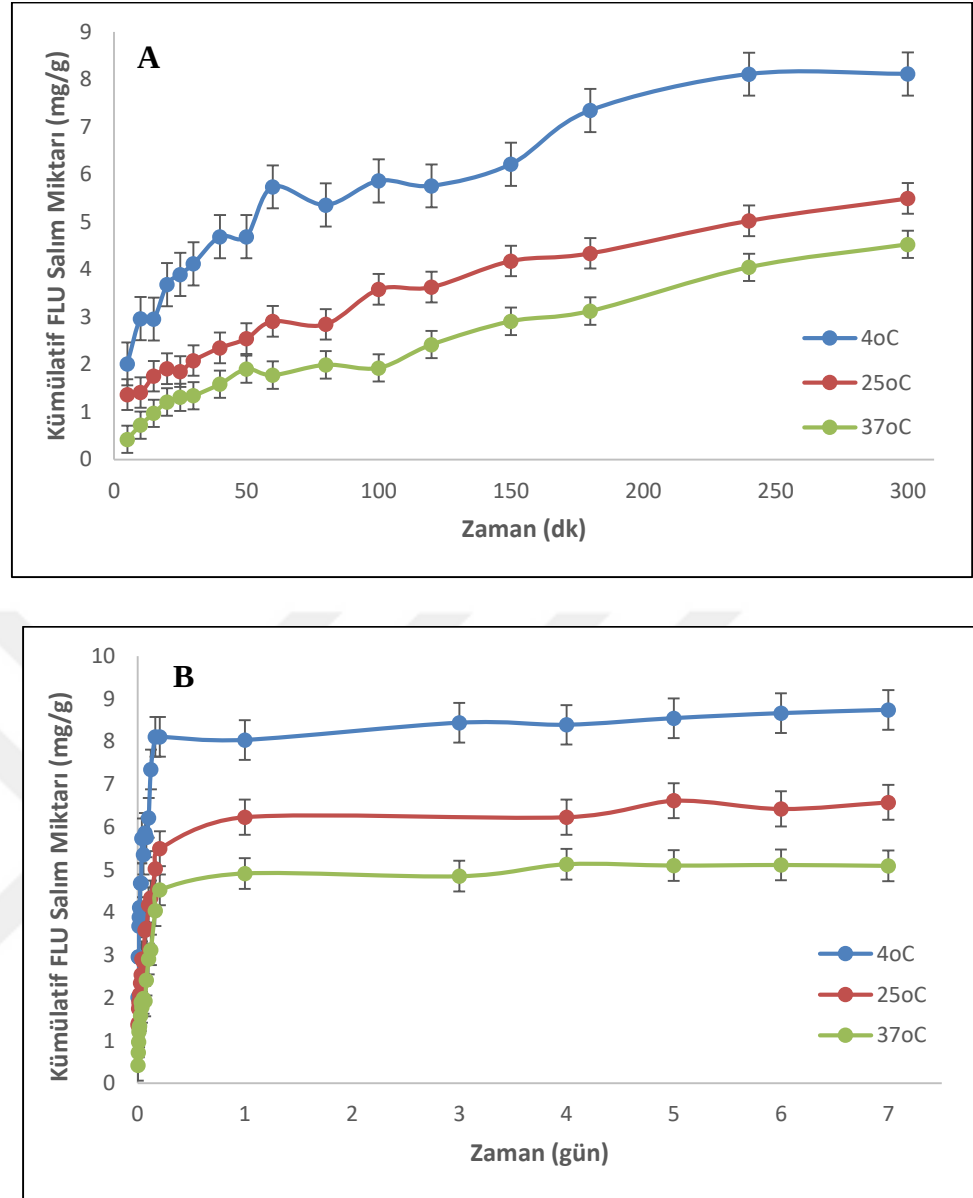
4.6.3 SAM ve FLU salımında sıcaklığın etkisi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımında sıcaklığın etkisini incelemek için 4°C, 25°C ve 37 °C sıcaklıklarında salım davranışları incelendi. İlaç yüklemesi için 1000 ppm konsantrasyonlarında yüklü nanopartikül kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 µL nanopartikül ile 800 µL ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 µL 10mM pH 7,4 fosfat tamponundan ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da 6 mL 10mM pH 7,4 fosfat tamponu içeren vialler içerisine konulup, 4°C için buzdolabında orbital karıştırıcıda, 25°C için oda sıcaklığında orbital karıştırıcıda, 37°C' için ise sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 µL örnek alım yerine 500 µL taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (Bölüm 3,5'de anlatıldığı gibi) kullanıldı.

Mobil faz 0,45 μm 'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı % kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 4-41. SAM'nın, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında sıcaklığın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 1000 ppm, 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları: 10mM pH 7,4 fosfat tamponu)



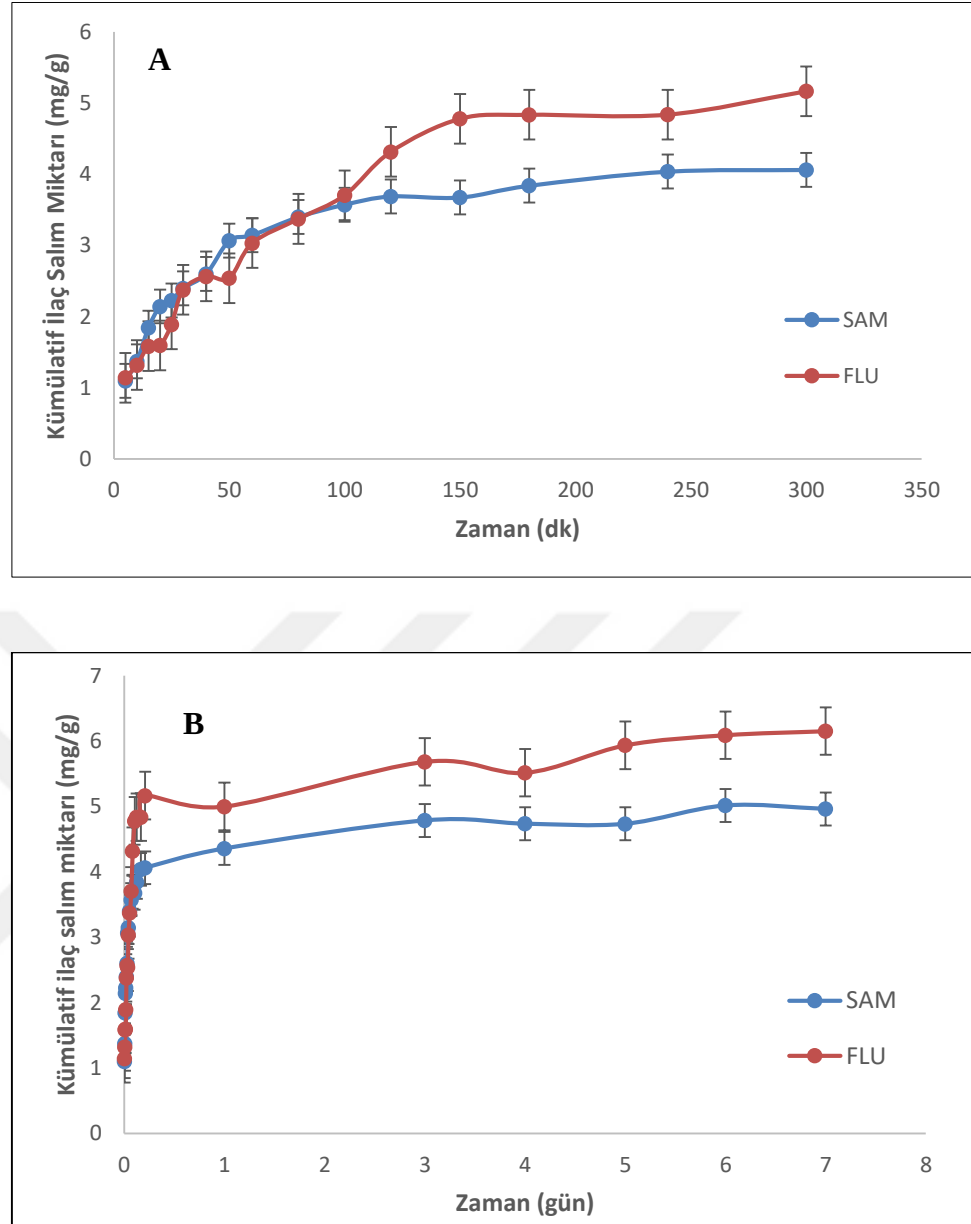
Şekil 4-42. FLU'nun, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımında sıcaklığın etkisi, A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 1000 ppm, 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları: 10mM pH 7,4 fosfat tamponu)

Şekil 4-41 ve Şekil 4-42'de SAM ve FLU'nun MIP nanopartiküllerinden salımında sıcaklığın etkisi görülmektedir. Yaklaşık 5 saatten sonra SAM ve FLU ilaçların salımı dengeye geldiği ve 7 gün boyunca salınan ilaç miktarında değişme olmadığı belirlenmiştir. Adsorpsiyon çalışmalarında belirtildiği gibi MIP nanopartiküllere SAM ve FLU adsorpsiyonunda ikincil etkileşimler (van der Waals, hidrojen bağı, hidrofobik etkileşim vb.) etkili olduğu için sıcaklık artışı bu etkileşimlerin daha kuvvetli olmasını sağlar ve ilaç salımını azaltmaktadır. Bu nedenle adsorpsiyon çalışmalarıyla uyumlu olarak, sıcaklık arttıkça salınan ilaç

miktarlarında azalma görülmüştür. 7. gün sonunda en yüksek salım miktarı 4 °C sıcaklığında SAM için 28,51 mg/g, FLU için 8,74 mg/g olarak belirlenmiştir.

4.7 Simüle Akciğer Sıvısı Ortamında SAM ve FLU Salımı

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımının akciğer ortamındaki davranışını in vitro ortamda incelemek için simüle akciğer sıvısı (SLF) hazırlandı. Bunun için akciğerin derinliklerindeki sıvı ortamını taklit eden Gamble's solüsyonu literatürde belirtildiği gibi (Marques et al. 2011) Çizelge 2-1'deki gibi hazırlandı. 1000 ppm SAM ve FLU yüklü MIP nanopartiküller kullanıldı. Bunun için eppendorf tüplerine 200 µL nanopartikül ile 800 µL ilaç çözeltileri 37 °C su banyosunda 45 dk karıştırmaya bırakıldı. Süre sonunda eppendorf tüpleri 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi, üst fazları HPLC tayini için ayrıldı. Çöken nanopartiküller ise bağlanmayan ilaç moleküllerini uzaklaştırmak için su yıkaması yapıldı, 14500 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Üst fazları HPLC analizi için ayrıldı. Salım denemesi için çöken nanopartiküller 200 µL SLF çözeltisinden ilave edilip diyaliz membranına aktarıldı. Diyaliz membranları da SLF çözeltisi içeren vialler içerisine konulup, 37°C'de sıcaklıkta su banyosunda karıştırmaya bırakıldı. İlk yarım saat 5'er dakika, daha sonra bir saate kadar 10'ar dakikada, ikinci saate kadar 20'şer dakikada, üçüncü saate kadar 30'şar dakikada, beşinci saate kadar 60'şar dakikada bir 500 µL örnek alım yerine 500 µL taze salım ortamından eklendi. Alınan örnekler metanol ile 2 kat seyreltilip, ardından 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek HPLC'de tayin edildi. Yöntem olarak ikinci geliştirilen HPLC yöntemi (Bölüm 4,4'de anlatıldığı gibi) kullanıldı. Mobil faz 0,45 µm'lik membranlardan filtre edilerek kullanıldı. Zamana karşı kümülatif SAM ve FLU miktarları (mg/g) hesaplandı.



Şekil 4-43. SAM ve FLU'nun, simüle akciğer ortamında SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden salımı A) 300 dk içinde, B) 7 gün içindeki salımı (Yükleme koşulları: 1000 ppm, 37°C, 45 dk, metanol içerisinde; Salım koşulları: SLF çözeltisi içinde, 37 °C)

Simüle akciğer ortamında MIP nanopartiküllerden salınan SAM miktarı 7. gün sonunda 4,96 mg/g iken, salınan FLU miktarı 6,15 mg/g olarak belirlendi. Salına SAM miktarı; 37°C, pH 7,4 fosfat tamponundaki salım miktarı ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmektedir. SAM ile MAAL monomeri arasında hidrojen bağı, van der waals ve hidrofobik etkileşimlerin baskın oldu düşünülmektedir. Simüle akciğer sıvısının pH değeri 7,4 olmasına karşın birçok tuz barındırmaktadır. Ortamdaki tuz miktarı arttıkça hidrofobik etkileşimleri

arttırmaktadır ve dolayısıyla salım miktarını azaltmaktadır. Bu nedenle daha düşük SAM miktarı elde edilmiştir.

Simüle akciğer ortamında MIP nanopartiküllerden 5. saatte salınan SAM miktarı, toplam salınan SAM miktarının %82'si iken, FLU miktarı, toplam salınan FLU miktarının %84'dür. Salınan SAM ve FLU'nun %50'si sırasıyla 50. ve 60. dakikalarda salındığı görülmektedir. Burada ilk aniden yayılma (burst effect) etkisinden olduğu düşünülmektedir. İlk aniden yayılma etkisi, nanopartikülün yüzeyinde dispers olan ilaçlardan kaynaklanmaktadır (Li et al., 2013).

Salınan % kümülatif SAM ve FLU değerleri hesaplandığı zaman yüklenen ilaç miktarlarının yaklaşık %10 gibi bir değeri salındığı görülmektedir. Benzer bir durum, Craparo ve ark. 2017 yılında yaptığı bir çalışmada flutikazon propiyonat (FLU) salımı için α,β -poli(N-2-hidroksietil)-D,L-aspartamin (PHEA), poli(laktik asit) (PLA) ve polietilen glikol (PEG) oluşan PHEA-PLA-PEG2000 polimerik nanopartiküller sentezlemişlerdir. Simüle akciğer sıvısı içerisinde, pH 7,4'ünde 48 saat sonunda polimerik nanopartikülden salınan % kümülatif FLU değeri yaklaşık %5 olduğunu ve yüklenen ilacın yaklaşık %90'nının nanopartikül içerisinde korunduğunu belirtmişlerdir. Bunun istenilen bir durum olduğunu, nanopartikülün hücre içerisine girdiğinde ilaç salımı sağlanarak ilaç etkisinin göstereceği yorumu yapılmıştır.

4.8 Salım Kinetiğinin Matematiksel Analizi

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun simüle akciğer sıvısı içerisindeki salım kinetiğini incelemek için beş farklı salım kinetik modellerinin eşitlikleri kullanıldı. Bunlar; sıfırıncı dereceden salım modeli, birinci dereceden salım modeli, Higuchi modeli, Hixcon-Crowell modeli ve Korsmeyer–Peppas modelidir.

Bölüm 3-10'da belirtildiği gibi sıfırıncı dereceden hız modeli,

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_d t \quad (23)$$

Eşitlik ile tanımlanır. M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_d , ilaç salım sabitini ifade eder. M_t/M_∞ karşı t grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimi k_d 'i verir.

Birinci dereceden eşitlik ise,

$$\log \left(100 - \frac{M_t}{M_\infty} \right) = \log 100 - k_1 t \quad (24)$$

Eşitliği ile tanımlanır. M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_1 , ilaç salım sabitini ifade eder. $\log(M_t/M_\infty)$ 'a karşı t grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimden k_1 hesaplanır.

Higuchi modeli,

$$\frac{M_t}{M_\infty} k_H \sqrt{t} \quad (25)$$

Eşitliği ile tanımlanır. M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_H , ilaç salım sabitini ifade eder. M_t/M_∞ karşı $t^{1/2}$ grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimi k_H değerini ifade eder.

Hixson-Crowell modeli,

$$\left(100 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{\frac{1}{3}} = 100^{\frac{1}{3}} - k_{HC} t \quad (26)$$

Eşitliği ile ifade edilir. M_t ve M_∞ sırayla t anındaki ve dengedeki ($t=\infty$) salım miktarını; k_{HC} , ilaç salım sabitini ifade eder. $(M_t/M_\infty)^{1/3}$ 'e karşı t grafiği çizildiği zaman doğrunun eğimi k_{HC} değeri bulunur.

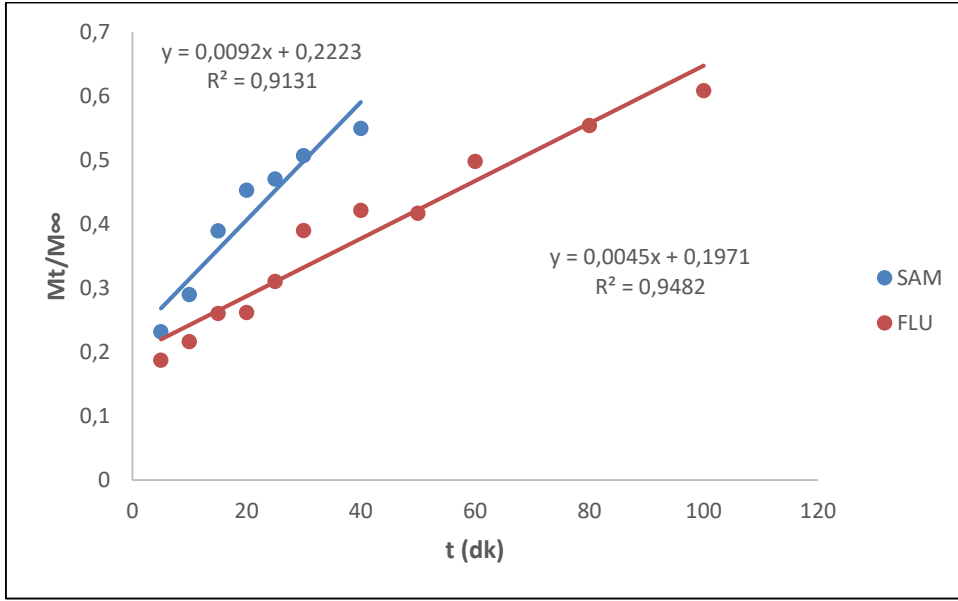
Korsmeyer-Peppas tarafında geliştirilen güç kanu ise:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k \cdot t^n \quad (27)$$

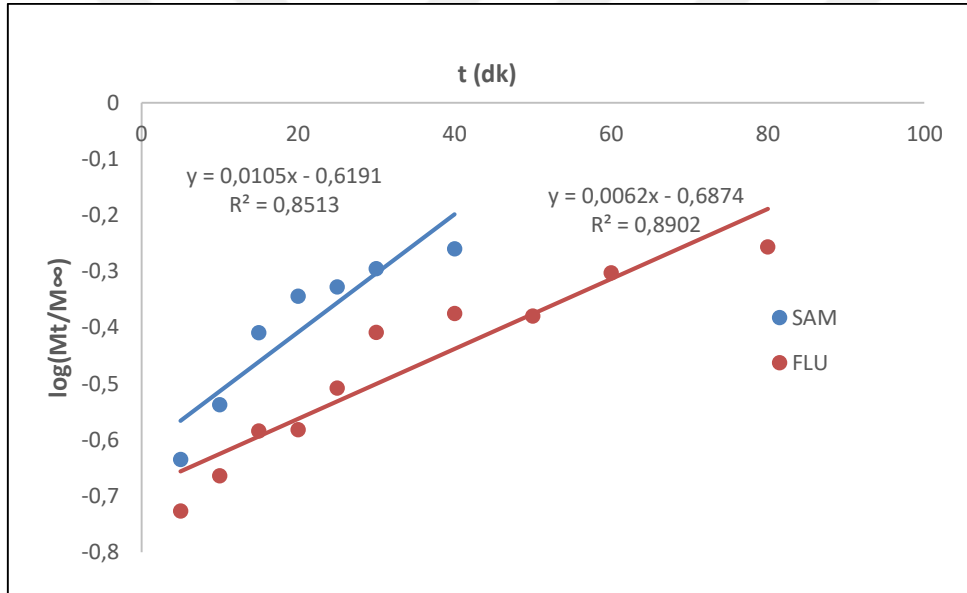
Eşitliği ile ifade edilir. Burada, k yapısal/geometrik sabit, n ise salım mekanizmasının difüzyon üstelidir. M_t ve M_∞ , sırayla t anında ve dengede ($t=\infty$) salınan ilaç miktarını gösterir. Eşitliğin her iki tarafın logaritması alındığında;

$$\ln F = \ln k + n \cdot \ln t \quad (27,1)$$

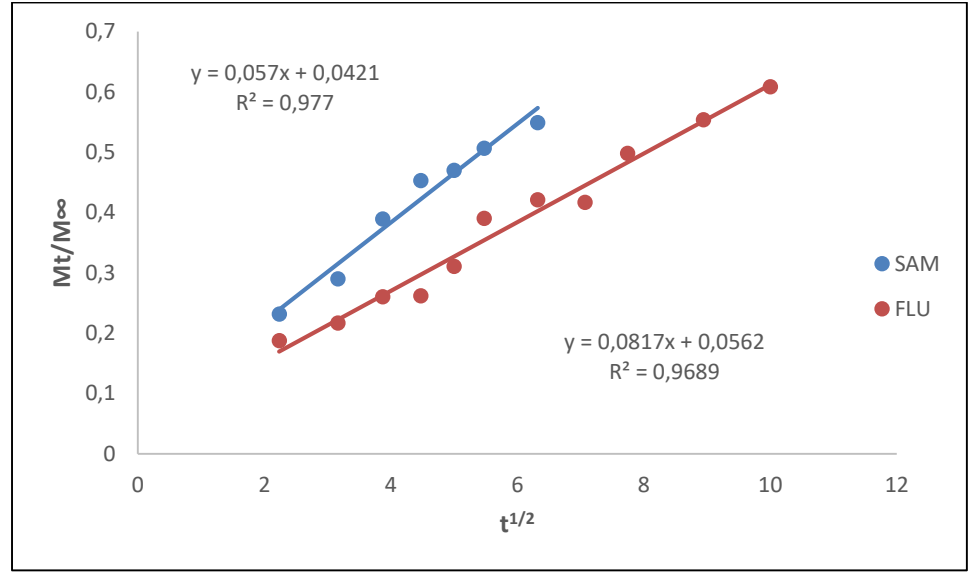
Eşitlik elde edilir ve $\ln F - \ln t$ grafiği çizilerek doğrunun eğiminin hesaplanmasıyla n değerini, grafiğin eksenini kestiği nokta ile k değeri bulunur.



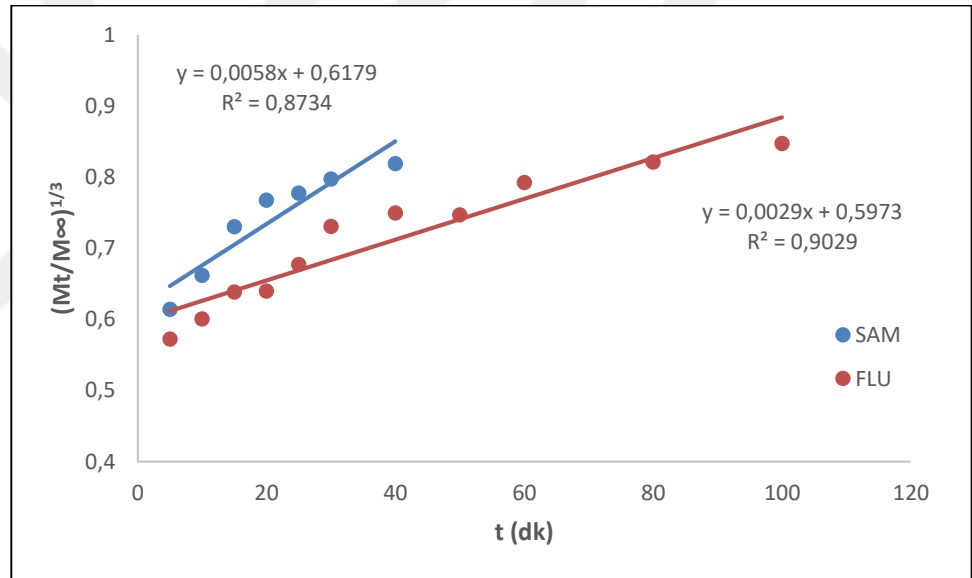
Şekil 4-44. SAM ve FLU salımı için sıfırıncı dereceden salım modeli



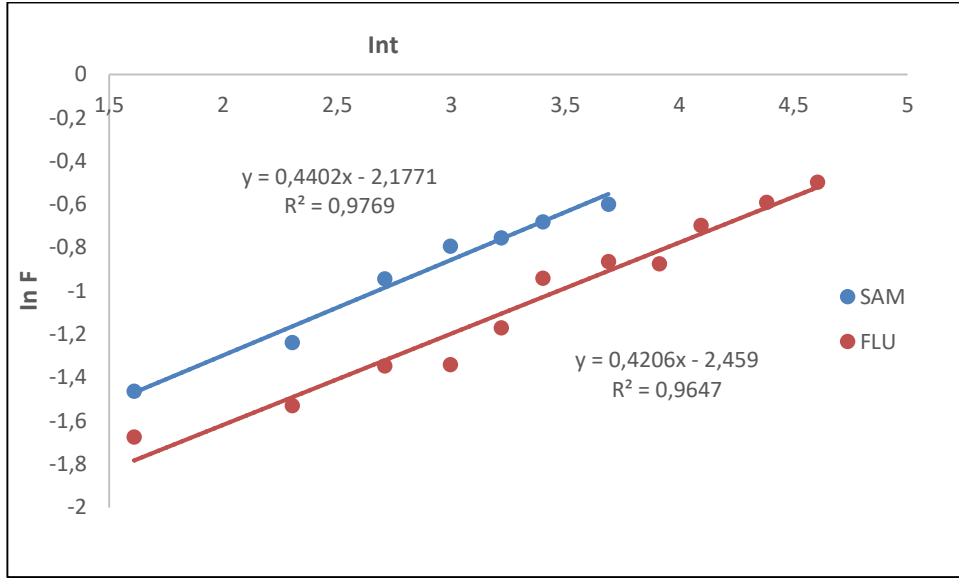
Şekil 4-45. SAM ve FLU salımı için birinci dereceden salım modeli



Şekil 4-46. SAM ve FLU salını için Higuchi modeli



Şekil 4-47. SAM ve FLU salını için Hixson-Crowell modeli



Şekil 4-48. SAM ve FLU salımı için Korsmeyer-Peppas modeli

Grafiklerin doğru denklemleri kullanarak hesaplanan salım modellerin hız sabit değerleri Çizelge 4-8’de görüldüğü gibidir.

Çizelge 4-8. SAM ve FLU’nun simüle akciğre ortamındaki salımının kinetik modellerinin parametreleri

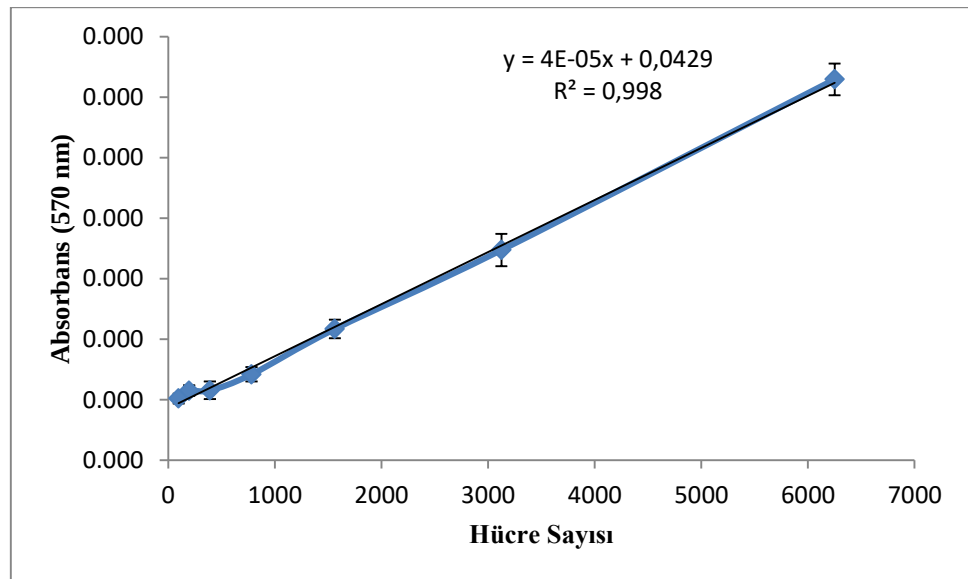
	Sıfırıncı Dereceden Kinetik		Birinci Dereceden Kinetik		Higuchi Modeli	
	kd	R ²	k ₁	R ²	k	R ²
SAM	0.009	0.9131	0.011	0.8513	0.057	0.977
FLU	0.005	0.9482	0.006	0.8902	0.0817	0.9689
	Korsmeyer-Peppas Modeli			Hixson-Crowell Modeli		
	n	k	R ²	k _{HC}	R ²	
SAM	0.44	0.113	0.9769	0.006	0.8734	
FLU	0.42	0.086	0.9647	0.003	0.9029	

Çizelge 4-8’de görüldüğü gibi SAM ve FLU’nun salımının kinetiği Higuchi modeline uygun olduğu (R²=0,977 ve R²=0,9689) belirlenmiştir. Higuchi modeline göre, ilacın matriksten salımı Fickian difüzyonuna dayanan zamana bağlı bir sürecin karekökü olarak gerçekleşir (Guragain et.al., 2018). Peppas, ilaç salım mekanizmasını tanımlamak için n değerini kullanır. Küresel morfoloji için n=0,43 Fick difüzyonunu, 0,43<n<0,85 Fick difüzyonuna uymayan difüzyon davranışını (anormal taşıma) n=0,85 Durum II (gevşeme kontrollü) modelini ifade eder. MIP

nanopartiküllerden FLU'ın salımı Fick difüzyon modeline uyan salım davranışı ($n=0,42$). SAM ise Fick difüzyon modeline uymayan salım davranışı ($n=0,44$) sergilediği belirlendi. Fick difüzyonal salımı, kimyasal potansiyel nedeniyle ilacın olağan moleküler difüzyonu ile oluşur (Shoaib et.al., 2006). Fick difüzyonunda, ilacın kalıp molekülünden uzaklaşma hızı, ilacın difüzyon hızından yüksek olduğunu ifade eder. Fick difüzyonuna uymayan difüzyon davranışında (anormal taşıma) ise ilacın kalıp molekülünden uzaklaşma hızı ve ilacın difüzyonunun aynı anda oluştuğunu ifade eder.

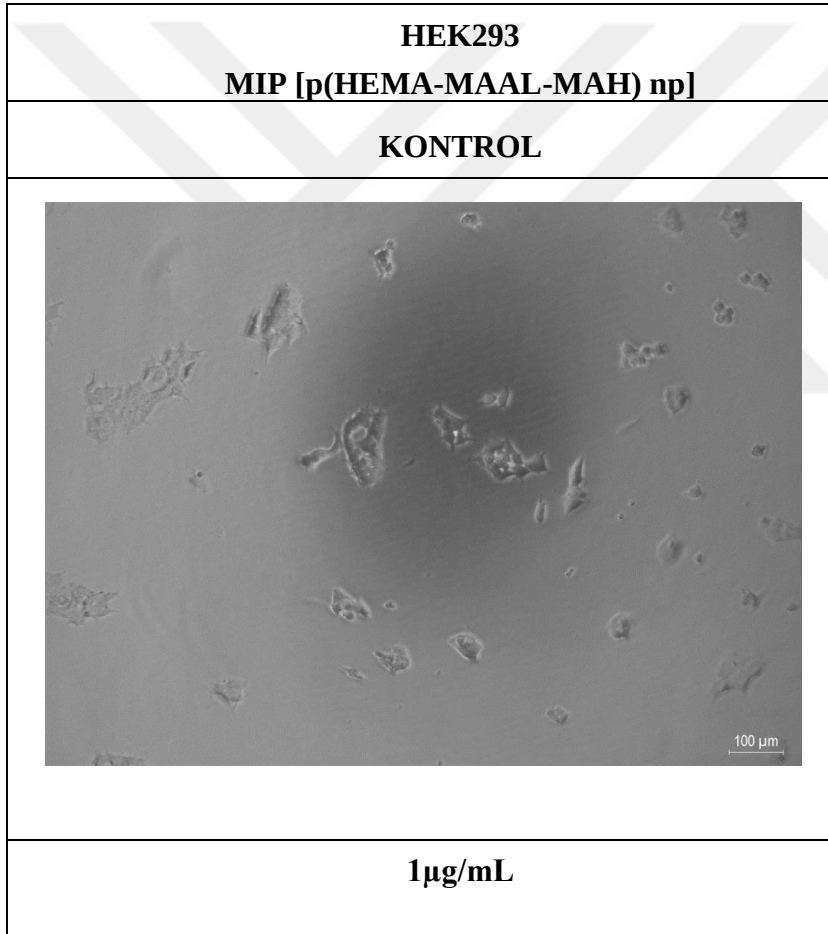
4.9 SAM ve FLU Baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) Nanopartiküllerin İn Vitro Sitotoksikite Testi

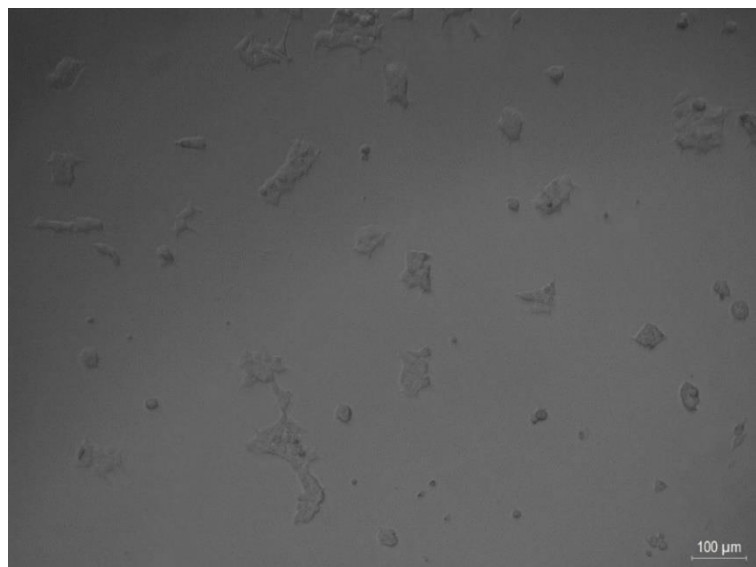
Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Biyomalzemeler ve Üç Boyutlu Biyoaraçlar Laboratuvarında, SAM ve FLU ilaçlarının salımı için sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküller için hücre canlılık testi olarak sıkça kullanılan MTT testi uygulandı. Bölüm 3.11'de belirtilen yöntem kullanılarak elde edilen absorbans değerleriyle hücre sayısına karşılık grafik oluşturuldu ve elde edilen eğriye ait denklem absorbans değeri şeklinde elde edilen deney verilerini hücre sayısına çevirmek üzere kullanıldı. Hücre sayısı verilerine göre sitotoksikite grafikleri elde edildi.



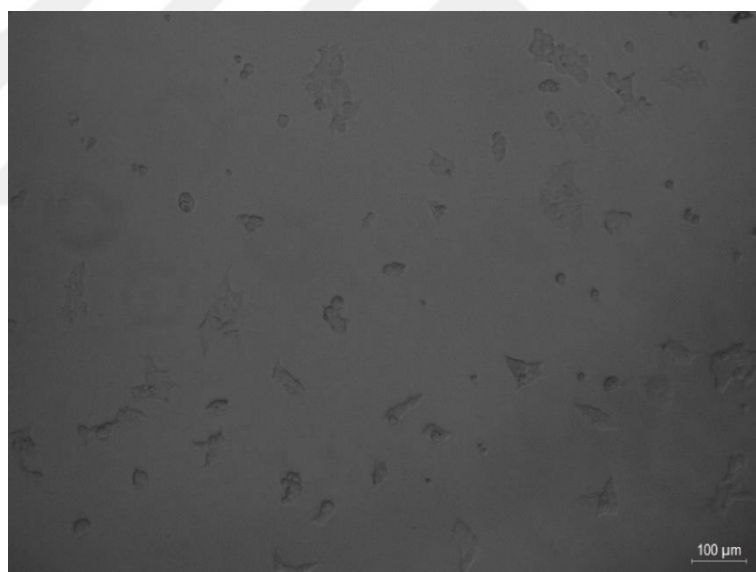
Şekil 4-49. HEK293 hücre hattına ait absorbansa karşılık hücre sayısı grafiği

Grafiklerde 4 tekrarın ortalaması $\pm$ standart sapmaları (SD) sütun grafik olarak verildi. Uygulanan testten elde edilen verilerin anlamlılık derecelerinin istatistiki olarak değerlendirilmesi için GraphPad prism programı (versiyon 6, GraphPad Software, Inc., San Diego Kaliforniya, ABD) ve IBM SPSS Statistics (versiyon 20, IBM SPSS Software, IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) kullanılmıştır. Deney grupları (n=4) arasındaki istatistiksel farklar normal dağılıma uyanlar için tek yönlü ANOVA (varyans analizi) yöntemi ile, normal dağılıma uymayanlar için Kruskal Wallis testi ile %95 güven aralığında ($p \leq 0.05$) değerlendirilmiştir ve gruplar arasında ikili ilişkiler sırasıyla Tukey çoklu karşılaştırma (post-hoc) ve Dunn's çoklu karşılaştırma yöntemiyle saptanmıştır.

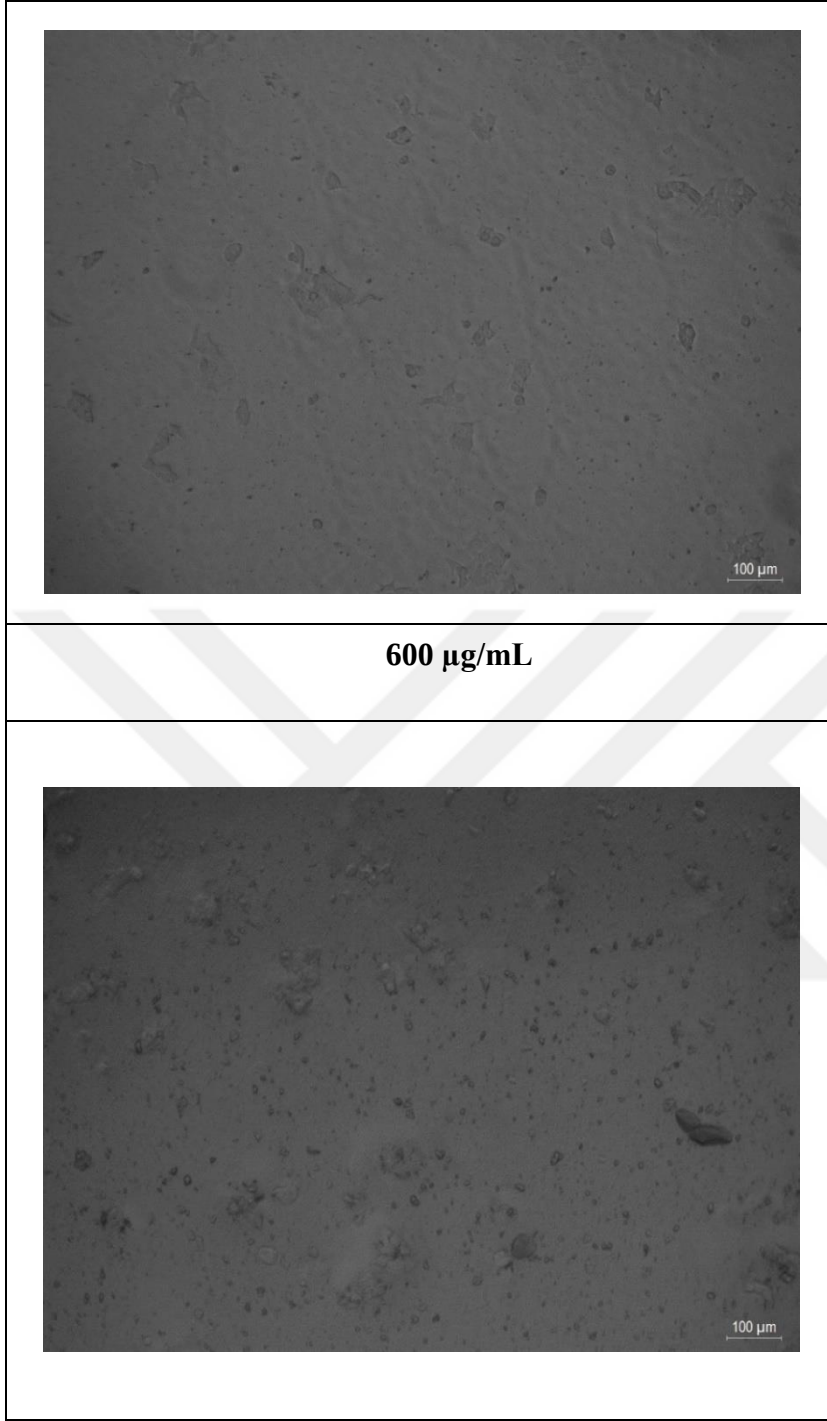




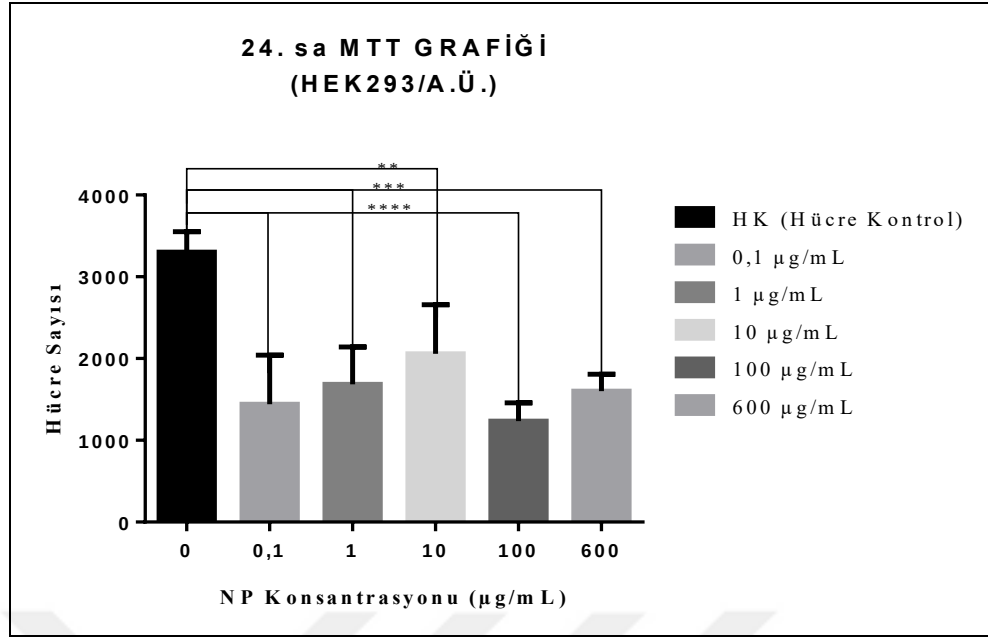
10 µg/mL



100 µg/mL



Şekil 4-50. HEK293 hücrelerinin NP'ler ile muamelesi sonrası morfolojileri



Şekil 4-51. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin HEK293 hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini incelemek üzere elde edilmiş hücre canlılığı grafiği.
24 saat sonunda 100 ve 600 µg/mL konsantrasyonlarında toksik etki görülürken 10 µg/mL konsantrasyonundaki nanopartikülde hücre kontrolüne göre canlılıkta anlamlı bir farka sebep olmamıştır (*p≤0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001, ****p≤0.0001)

Şekil 4-51’de görüldüğü gibi MIP nanopartikülün konsantrasyonu 0,1 µg/mL’den 600 µg/mL’ye arttıkça canlı hücre sayısında anlamlı bir değişim gözlemlenememiştir. 24 saat sonunda 100 ve 600 µg/mL konsantrasyonlarındaki MIP nanopartiküllerin hücrelerin canlılığını baskıladığını görülürken, 10 µg/mL konsantrasyonundaki MIP nanopartiküllerin hücre canlılığını daha az baskıladığı görülmüştür. Bu nedenle, 10 µg/mL konsantrasyonundaki MIP nanopartiküllerin kullanılması uygun olacaktır.

Salmeterol ksinofoattın göğüs hastalıkları tedavisinde kullanılan doz aralığı 14-50 mikrogramdır. Doz aşımında ise, anjina (göğüs ağrısı), baş dönmesi, ağız kuruluğu, yorgunluk, grip benzeri semptomlar, baş ağrısı, kalp düzensizlikleri, yüksek veya düşük kan basıncı, yüksek kan şekeri, uykusuzluk, kas krampları, bulantı, sinirlilik, hızlı kalp atışı, nöbet ve titreme gibi semptomlar görülmektedir. Yapılan hayvan çalışmalarda oral yolla, sıçanlarda 1000 mg/kg’da ölümler olmamıştır (yetişkinlerde önerilen maksimum günlük solunum dozunun yaklaşık 81.000 katı ve mg/m² bazında çocuklarda önerilen maksimum günlük solunum dozunun yaklaşık 38.000 katı) (Drugbank 2019). Hayvan toksisite çalışmalarından kronik maruziyet veya kanserojenite çalışmalarında, CD farelerinde 18 aylık oral

kanserojenlik çalışmasında, 1.4 mg/kg ve üzeri oral dozlarda salmeterol xinafoat düz kas hiperplazisi, kistik glandüler hiperplazi insidansında doza bağlı artışlara neden olduğu, rahim leiomyomları ve yumurtalıklardaki kistler oluşumu belirlenmiştir. Liyomiyosarkom insidansı istatistiksel olarak anlamlı olmayıp, 0.2 mg/kg'da tümör görülmemiştir. Gelişimsel veya üreme toksisitesi çalışmalarında, 2 mg/kg'a kadar dozlarda salmeterol ksinafoat ile oral yoldan tedavi edilen erkek ve dişi sıçanlarda doğurganlık üzerinde hiçbir etki tespit edilmemiştir. Başka bir çalışmada ise hamile hollandalı tavşanlarda, 1 mg/kg ve üzeri oral dozlarda uygulanan salmeterol kinafoat, karakteristik olarak beta-adrenoseptör stimülasyonundan kaynaklanan fetal toksik etkiler sergilemiştir; bunlar arasında erken göz kapağı açıklıkları, yarı damak, sternebral füzyon, ekstremit ve pençe fleksiyonları ve ön kraniyal kemiklerin ossifikasyonunu bulunmaktadır. 0.6 mg/kg'lık bir oral doz uygulamsında ise önemli bir etki görülmemiştir. Genotoksisite çalışmalarında ise, salmeterol kinafoat, in vitro mikrobiyal ve memeli gen mutasyonlarında saptanabilir veya çoğaltılabilir artışlar üretmemiştir. İnsan lenfositlerinde in vitro veya bir sıçan mikronükleus testinde in vivo hiçbir klastojenik aktivite meydana gelmemiştir (Toxnet, Salmeterol, 2019).

Flutikazon propiyonattın göğüs hastalıkları tedavisinde kullanılan doz aralığı ise 50 mikrogram ile 1 gram arasında değişmektedir. Flutikazon propiyonattın hayvan toksisite çalışmalarından kronik maruziyet veya kanserojenite çalışmalarında, 78 hafta boyunca 1 mg/kg'a kadar (yetişkinler için önerilen günlük intranazal dozajın yaklaşık 20 katı, çocuklar için önerilen günlük intranazal dozajın yaklaşık 10 katı) oral flutikazon propiyonat dozu verilen farelerde veya 104 hafta boyunca 57 ug/kg'a kadar (yetişkinlerde tavsiye edilen maksimum günlük intranazal dozajın yaklaşık 2 katı ve çocuklarda önerilen maksimum günlük intranazal dozaja yaklaşık olarak eşdeğer) inhale flutikazon propiyonat dozu alan farelerde kanserojenik kanıt görülmemiştir. Başka bir çalışmada ise, flutikazon propiyonattın kanserojen potansiyelini değerlendirmek için 18 aylık iki çalışma yapılmış ve flutikazon propiyonattın topikal (0,05 merhem olarak) ve oral olarak uygulanmıştır. Her iki çalışmada da kanserojenlik kanıtı bulunamamıştır. Gelişimsel veya üreme toksisitesi çalışmalrında ise flutikazon propiyonattının, sırasıyla 45 veya 100 ug/kg günlük dozajlarda deri altından verildiğinde, farelerde veya sıçanlarda teratojenik ve embriyotoksik olduğu gösterilmiştir (yetişkinlere

göre, günde önerilen maksimum intranazal dozajın 4 katı kadardır). Gözlenen fetal toksisite, güçlü glukokortikoid bileşiklerinin karakteristiğiydir ve embriyonik büyüme geriliği, omfalosel, yarık damak ve gecikmiş kraniyal ossifikasyon içerir. Tavşanlarda flutikazon propiyonat günde 300 ug/kg'a kadar (yetişkinlerde önerilen maksimum günlük intranazal dozajın 25 katına kadar) oral uygulamadan sonra, ilaç plazmada saptanmamış ve maternal etkiler ve artmış dış, visseral veya iskelet fetal defekt insidansı tespit edilmiştir. Plasenta boyunca düşük biyoyararlanım ve küçük flutikazon propiyonat dağılımı teratojenite eksikliğinden sorumlu olabilir; oral flutikazon propiyonat dozu alan sıçanlarda ve tavşanlarda, sırasıyla 100 ug/ kg (590 ug /m²) veya 300 ug / kg (3.6 mg/m²), dozu % 0.008'den az plasentayı geçmiştir. Genotoksisite çalışmalarında ise flutikazon propiyonatın Ames mikrobiyal (*Salmonella typhimurium*) mutajen testi, *Escherichia coli* dalgalanma testi ve *Saccharomyces cerevisia* gen dönüşüm testini içeren in vitro çalışmalarda test edildiğinde prokaryotik veya ökaryotik hücrelerde in vitro olarak mutajenite kanıtı görülmemiştir. Çin hamsteri yumurtalık ve kültürlü insan periferik lenfositleri dahil olmak üzere in vitro memeli hücresi sitogenetik çalışmaları test edildiğinde, flutikazon propiyonatın kromozomal hasara neden olmadığı görülmüştür. Oral veya subkutan yollardan yüksek dozda flutikazon propiyonat alan farelerde in vivo mikronükleus testinde ters kromozomal etki kanıtı görülmemiştir. Ayrıca, ilaç kemik iliğinde eritroblast bölünmesini geciktirmemiştir (Toxnet, flutikazon, 2019)

5 DEĞERLENDİRME

Solunum sistemi birçok hastalığa duyarlıdır ve akciğer genetik faktör, enfeksiyon ve hava kirliliğın neden olduğu çok sayıda hastalığa meyillidir. Solunum sisteminde görülen en yaygın problemler: astım, bronşiyolit, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), soğuk algınlığı, öksürük, sistik fibrozis (CF), akciğer kanseri, akciğer yüksek tansiyonu, yeni doğanda solunum hastalıklarıdır (Smola et al. 2008). Bu hastalıklardan en yaygın olan astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığıdır (KOAH) ve etkisi giderek artmaktadır. Bu hastalıklar hava yolunu tıkanmasıyla karakterize edilir. Astımda tıkanıklık değışken ve tersinirken, KOAH’da ileri ve büyük ölçüde geri dönüşümsüzdür. İki hastalıkta da solunum yolunda çok farklı inflamasyon proteinlerin ekspresyonlarındaki artıştan dolayı kronik inflamasyon vardır (Barnes 2008; Silva et al. 2013). Astım ve KOAH gibi hastalıkların tedavisinde lokal ve hızlı etkili olması nedeniyle inhalasyon yoluyla ilaç kullanımı sıklıkla tercih edilmektedir.

Pulmoner ilaç taşınım, oral yol veya enjeksiyon ile salınım yöntemlerine göre birçok avantajı olan, alternatif bir ilaç taşınım sistemidir (Oh et al. 2011). Akciğerler; geniş yüzey alanına, ince alveolar epitelyumuna, kolay geçirgenli membran yapısına ve geniş damarlı yapıya sahip oldukları için çözünebilir maddelerin ve ilaçların kolay ve hızlı bir şekilde absorplanmasını sağlamaktadır (Oh et al. 2011; Garbuzenko et al. 2014). Ayrıca, pulmoner yolla ilaç salınımında karaciğerin ilk geçiş etkisi de ortadan kaldırması gibi birçok avantaja sahiptir (Zhang et al. 2011). Son yıllarda topikal astım tedavisinde, lokal enfeksiyon hastalıklarında, pulmoner hipertansiyon, kistik fibrosis gibi lokal solunum hastalıkları ve bazı sistemik rahatsızlıklarda inhaler yolla ilaç tedavileri başarıyla uygulanmaktadır (Garbuzenko et al. 2014). Pulmoner uygulamalar için nanotaşıyıcılar son yirmi yıldır popüler olan bir konudur. Lipozomlar, polimerik miseller, dendrimerler, mezoporoz silika nanopartiküller, nanoyapılı lipid taşıyıcılar gibi farklı nanotaşıyıcıların pulmoner yolla ilaç salımında kullanımı araştırılmıştır. Polimerik taşıyıcılar günlük ilaç dozunun azaltılmasına neden olmaktadır. Partikül boyutu ve yüzey özelliğinden dolayı polimerik taşıyıcılar ilaçların kolaylıkla difüze olmasına sağlamaktadır. Nanaopartiküller ayrıca mukozal yüzeye yapışkanlığının arttırmasıyla ve mukosiliyer klerens’i azaltarak

ilaçların alıkonma süresinin uzatılmasını imkân sağlamaktadır. Ayrıca çözelti formülasyonlarıyla kıyaslandığında suspensiyon nanopartiküller iritasyonu ve potansiyel toksisiteyi azaltmaktadır (Zhang et al. 2011; Garbuzenko et al. 2014; Ungaro et al. 2012; Beck-Broichsitter et al. 2012).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, pulmoner yolla kullanmak üzere farklı ilaç taşıyıcıların geliştirildiği görülmektedir. 2008 yılında Learoyd ve ark. terbutaline sulfate salımı için kitosan bazlı sprey kurutma yöntemiyle partikülleri sentezlemişlerdir. Patel ve ark. 2012 yılındaki yaptıkları çalışmada, çift emülsiyon-solvent evaporasyon yöntemiyle PEG-PLGA bazlı büyük gözenekli partikülleri hazırlamışlar ve düşük molekül ağırlıklı heparinin pulmoner yolla salımını araştırmışlardır. Tuli ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada ise Salbutamol sulfate taşınımı için polikaprolakton mikroküreleri yağ-su solvent evaporasyon yöntemiyle hazırlamışlardır.

Bu yöntemlerden farklı olarak ilaç taşınımında kullanılabilecek diğer bir yöntem ise moleküler baskılama yöntemidir. Moleküler baskılama tekniği ile hazırlanan ilaç taşıyıcı sistemlere olan ilgi son yıllarda artış göstermektedir. Moleküler baskılama; üzerinde hedef molekül (baskı molekülü, kalıp) tanıma özelliği taşıyan merkezler içeren polimerlerin sentezlenmesi işlemidir. Moleküler baskılama tekniği, bir kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle düzenlenmesi ve sonrasında uygun bir işlem süreci ile kimyasal fonksiyona sahip katı malzemelerin oluşturulmasını amaçlamaktadır. İşlem sonrasında kalıp molekülün uzaklaştırılması ile yapıda kalıp molekülüne özgü oyuk bölgeler oluşmakta ve ayırma, kimyasal tayin ve kataliz gibi işlemler için ideal bir malzeme elde edilmektedir (Wulff and Poll, 1987; Lu et al., 2002; Yan and Ramstrom, 2005). Moleküler baskılanmış polimerler (MIP); doğal reseptörlere yakın ölçüde seçicilik ve afiniteleri, doğal moleküllere göre kararlılıklarının yüksek olması, hazırlanmalarının ve birçok farklı uygulamaya uyarlanmalarının kolay olması gibi özellikleri nedeniyle yoğun araştırmalara konu olmaktadır (Ramstrom and Ansell, 1998). Birçok avantaja sahip bu malzemelere ilgi giderek artmaktadır. Moleküler baskılanmış polimerler kimyasal sensörlerde, biyoanalizlerde, analitik ayırmalarda, çevresel analizlerde, proteomik çalışmalarında, gıda analizlerinde, katı faz ekstraksiyonlarında, preperatif

ayırmalarda, kandan saflaştırma işlemlerinde, terapötik görüntülemelerde, enzim benzeri kataliz sistemlerinde terapötik maddeler olarak ilaç salım sistemleri olarak birçok farklı uygulama alanına sahiptir. Moleküler baskılama yöntemi ile ilaç salım çalışmalarında hidrojeller sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda konvansiyonel yöntemlere göre moleküler baskılama yöntemi ile ilaç yükleme kapasitesinin arttığını ve kontrollü ilaç salımın sağlandığını belirtmişlerdir (Hiratani et al., 2005). Ayrıca; son yıllarda çoklu kalıp baskılama, çoklu fonksiyonel monomer baskılama, segment baskılama gibi farklı moleküler baskılama teknikleri dikkat çekmektedir (Chen et al., 2016).

Bu çalışmada, göğüs hastalıklarının tedavisinde kullanmak üzere literatürden farklı olarak çift baskılı nanopartiküller sentezleyerek hastalık tedavisinde kullanılan iki ilaç etken madesinin kontrollü salınması amaçlanmıştır. Bu amaçla, SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküller sürfaktantsız emülsiyon polimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Sentezlenen MIP nanopartiküllerin karakterizasyonu yapıldı. Bunun için SEM ve SPM görüntüleri çekildi, FTIR, Zeta boyut analizi yapıldı, spesifik yüzey alanı hesaplandı. MIP nanopartiküllerin karakterizasyonu sonucunda 231,8 nm çapında, 1055,00 m²/g yüzey alanına sahip MIP nanopartiküllerin elde edildiği belirlendi.

MIP nanopartiküllere SAM ve FLU ilaçların adsorpsiyon çalışmaları yapıldı. SAM ve FLU'nun adsorpsiyonu 45 dakikada dengeye ulaştığı; 1500 ppm konsantrasyon değerinde maksimum bağlanma miktarı SAM için 537,64 mg/g; FLU için 393,32 mg/g olarak belirlendi. Ayrıca ortam sıcaklığı arttıkça SAM ve FLU'nun adsorpsiyon miktarı arttığı belirlendi. Adsorpsiyon çalışmalarından elde edilen verilerle adsorpsiyon kinetiği, adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon termodinamikleri hesaplandı. SAM ve FLU'nun MIP nanopartiküllerine adsorpsiyonu, yalancı ikinci mertebe kinetik modele uygun olduğu belirlendi. Adsorpsiyon izotermi ve izotermi ise, her iki etken madde de düşük konsantrasyonda Langmuir izotermine uygun davranış sergilediği, konsantrasyon arttıkça tabakalı adsorpsiyon sergilediği görüldü. Bu nedenler her iki etken madde için de Langmuir tip(II) ve Freundlich izoterm modellerinin R² değerleri birbirine yakın çıktı. Adsorpsiyon termodinamik hesabında ise ΔH , ΔS ve ΔG değerleri hesaplandı. Pozitif entalpi değeri SAM ve FLU adsorpsiyonların endotermik olduğu ve yüksek

sayısal değeri kemisorpsiyonu şeklinin olduğunu belirtir. Bu durum, adsorpsiyon izotermi ve adsorpsiyon kinetiği deneyleri ile desteklenmiştir. Pozitif entropi, katı/sıvı ara yüzeyinde rastgeleliğin arttığının göstergesidir. Pozitif Gibbs serbest enerjisi değeri ise, adsorpsiyonların istemsiz olduğunu ifade eder.

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin seçimlilik denemesi için benzer kimyasal yapısına sahip, göğüs hastalıklarının tedavisinde kullanılan budesonid (BS) ve formeterol fumarat (FF) ilaçları ile benzer adsorpsiyon denemesi yapıldı. Dağılma, seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları hesaplandı. SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin SAM'ın BS molekülüne göre 9,78 kat, FF molekülüne göre 1,77 kat seçici olduğu; FLU'nın ise BS göre 2,19 kat, FF molekülüne göre 0,40 kat seçici olduğu belirlendi.

SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salım koşullarının optimizasyonu için başlangıç konsantrasyonun etkisi, pH etkisi ve sıcaklığın etkisi incelendi. Başlangıç konsantrasyonunun etkisinin incelemek için yapılan deneme sonunda, MIP nanopartiküllerden salmeterol ksinafoatın 1000 ppm yüklü nanopartiküllerden salım miktarı 7 gün sonunda en yüksek 21,15 mg/g olarak; flutikazon propiyonatın ise 1000 ppm yüklü nanopartiküllerden salım miktarı 5,09 mg/g olarak belirlendi. SAM ve FLU salımında pH etkisini incelemek için yapılan denemede ise SAM'ın en yüksek salımı pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde iken gözlemlendi ve 7. günün sonunda salınan salmeterol ksinafoat miktarı 21,15 mg/g olarak belirlendi. Flutikazon propiyonatın en yüksek salımı miktarı ise pH 7,4 fosfat tamponu içerisinde iken gözlemlendi ve 7. günün sonunda salınan flutikazon propiyonat miktarı 5,09 mg/g olarak belirlendi. SAM ve FLU salımında sıcaklığının etkisini incelemek için yapılan denemede en yüksek salınan SAM miktarı 4 °C sıcaklığında, 7. günün sonunda 28,51 mg/g olarak belirlendi. MIP nanopartiküllerden en yüksek salınan FLU miktarı ise 4°C sıcaklığında, 7. gün sonunda 8,74 mg/g olarak belirlendi.

Literatürde belirtilen şekilde hazırlanan simüle akciğer sıvısı ortamında SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerden SAM ve FLU'nun salımı incelendi ve salım kinetik modelleri hesaplandı. Simüle akciğer ortamında MIP nanopartiküllerden salınan SAM miktarı 7. gün sonunda 4,96 mg/g

iken, salınan FLU miktarı 6,15 mg/g olarak belirlendi. Salım denemesinden elde edilen verilerle yapılan hesaplama sonucuna göre, SAM ve FLU'nun salımının kinetiği Higuchi modeline uygun olduğu ($R^2=0,9462$ ve $R^2=0,9641$) belirlendi. Higuchi modeline göre, ilacın matriksten salımı Fickian difüzyonuna dayanan zamana bağlı bir sürecin karekökü olarak gerçekleşir (Guragain et.al., 2018). Peppas, ilaç salım mekanizmasını tanımlamak için n değerini kullanır. Küresel morfoloji için $n=0,43$ Fick difüzyonunu, $0,43 < n < 0,85$, anormal salım mekanizması olarak Fick olmayan modeli, $n=0,85$ ise durum II (gevşeme kontrollü) ifade eder. MIP nanopartiküllerden FLU'nun salımı Fick difüzyon modeline uyan salım davranışı ($n=0,42$). SAM ise Fick difüzyon modeline uymayan salım davranışı ($n=0,44$) sergilediği belirlendi.

Son olarak sentezlenen SAM ve FLU baskılanmış p(HEMA-MAAL-MAH) nanopartiküllerin in vitro sitotoksikite testleri yapıldı. Bunun için HEK293 hücre hattı kullanıldı ve hücre canlılık testi olarak sıkça kullanılan MTT testi uygulandı. 24 saat sonunda 100 ve 600 µg/mL konsantrasyonlarında toksik etki görülürken 10 µg/mL konsantrasyonundaki MIP nanopartiküllerin hücre canlılığını daha az baskıladığı belirlendi.

Literatürde nano, mikro veya film gibi taşıyıcılarla salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonat salımı ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Var olan çalışmalar da son birkaç yıl içerisinde yapılan çalışmalardır. Bunlardan salmeterol ksinafoat ile yapılan çalışmalarda, 2013 yılında Li ve arkadaşları sprey kurutma yöntemiyle kombine ettikleri iyonotropik jelleşme yöntemiyle WGA lektini ile salmeterol ksinafoat yüklü mikropartikül sistemi sentezlemişlerdir. Hazırladıkları mikropartiküllerin çapları 2-8 µm aralığındadır. Salmeterol ksinafoatın suda çözünürlüğünü arttırmak için % 0,5 (w/v) sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren ortamda salım denemesi yapmışlardır. Enkapsülasyon verimi %73,49, ilaç yükleme kapasitesi % 7,80 olan mikropartiküller yüklenen ilacın yaklaşık %80'nini saldıgını belirtmişlerdir. 2016 yılında Zhang ve Xu yaptıkları çalışmada salmeterol yüklü poli(laktit-co-glikolit) (PLGA) mikropartikülleri sentezleyip oral biyoyararlanımı araştırmışlardır. Mikropartikül sentezinde yağ-su emülsiyon solvent evaporasyonu yöntemini kullanmışlar ve çapları 14.7 ile 16.5 µm aralığında değişen mikropartiküller elde etmişlerdir. Salım denemelerini antimikrobiyal ajan olarak %

0,02 NaN_3 içeren pH 6.8 olan fosfat tamponu içerisinde yapılmıştır. İlaç yükleme kapasitesi % 7,6, enkapsülasyon verimi % 82,1 olan mikropartiküllerden, 72 saat sonunda yüklenen ilacın yaklaşık %80'nini saldığı belirtmişlerdir.

Flutikazon propiyonat ile yapılan çalışmalarda ise 2017 Ammar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada flutikazon propiyonat salımı için sodyum karboksimetil selülo yada karbopol içeren, hidroksipropil metil selüloz (HPMC), etil selüloz (EC) veya kitosan modifiyeli ultra ince mukoz adhezif bukal film sentezlemişleridir. İn vitro flutikazon propiyonat salım denemelerini 37 °C'de, pH 6.8 olan fosfat tamponu içerisinde yapmışlardır. Farklı polimerik malzemelerle modifiyeli membranlardan 12 saatin sonunda yüklenen ilacın yaklaşık %40 ile %100'ü arasında değişen salım profilleri gözlemlemişlerdir. Flutikazon propiyonat ile yapılan farklı bir çalışma ise 2018 yılında Pierstorff ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada flutikazon propiyonat içeren polimerik taşıyıcılardan uzun süreli intrakoklear ilaç salımı araştırılmıştır. Bunun için ginea pignin koklea scala timpanisine implant edilmiş ve duyma testleri yapılmıştır. Flutikazon propiyonatu polivinil alkol (PVA) ile kaplamışlardır. İn vitro salım denemeleri %70'lik metanol:su karışımında oda sıcaklığında (25°) gerçekleştirmişlerdir. Yüklenen ilacın yaklaşık %90'nını 100 saatin sonunda saldığını belirtmişlerdir. 2018 yılında Ahmed ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, flutikazon propiyonatin farklı polimerik malzemelerle hazırlanmış nanopartiküllerin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. FLU nanopolimerik partiküllerin hazırlanmasında hidroksil propil metilselüloz (HPMC), pol(vinil piroldon) (PVP), poli(vinil alkol) (PVA), etil selüloz (EC), Eudragit (EUD), ve Pluronic® kullanmıştır ve nanoçöktürme yöntemi ile polimerik nanopartikülleri sentezlemişleridir. 250 nm ile 600 nm arasında değişen nanopartiküller elde etmişlerdir. İn vitro flutikazon propiyonat salımı denemelerini 37 °C'de, pH 6.8 olan fosfat tamponu içerisinde yapmışlardır. Kümülatif salınan flutikazon propiyonat miktarının 60 dakika sonunda yaklaşık olarak % 100 olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, astım ve KOAH gibi göğüs hastalıklarının tedavisinde kullanılan salmeterol ksinafoat ve flutikazon propiyonatin kontrollü salımında kullanılabilecek, çift kalıplı ve çift fonksiyonel monomerli baskılanmış

nanopartiküller üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Geliştirilen biyouyumlu malzemenin nano boyutun etkisi ile kolaylıkla alveollere ulaşabilecek, göğüs hastalıkların tedavisinde etkin birşekilde kullanılabilecektir. Piyadasa hali hazırda bulunan ilaç formülasyonlarının dezavantajlarını ortadan kaldıracaktır. Elde edilen verilerle bu tezin uluslararası literatüre katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ahmed, S., Govender, T., Khan, I., Rehman, N.U., Ali, W., Shah, S.M.H., Khan, S., Hussain, Z., Ullah, R., and Alsaid, M.S.,** 2018, Experimental and molecular modeling approach to optimize suitable polymers for fabrication of stable fluticasone nanoparticles with enhanced dissolution and antimicrobial activity, *Drug Design, Development and Therapy*, 12, 255–269 pp.
- Akhter, Md.H., Gupta, J., Mohiuddin, Md. and Faisal Md.S.,** 2011, A Comprehensive review on buccal drug delivery system, *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 3:59-77 pp.
- Alexander, C., Andersson, H.S., Andersson, L.I., Ansel, R.J., Kirsch, N., Nicholls, I.A., Mahony, J.O. and Whitcombes, M.J.,** 2006, Molecular imprinting science and technology a survey of the literature for the years up to and including 2003, *Journal of Molecular Recognition*, 19:106-180.
- Alvar, A., Decramer, M. and Frith, P.,** 2010, Global initiative for chronic obstructive lung a guide for health care professionals global initiative for chronic obstructive disease. *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease*, 22 (4), 1–30 pp.
- Ammar, H.O., Ghorab, M.M., Mahmoud, A.A. and Shahin, H.I.,** 2017, Design and In Vitro/In Vivo Evaluation of Ultra-Thin Mucoadhesive Buccal Film Containing Fluticasone Propionate, *An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists*, 18,1, 93–103 pp.
- Andersson, L.I.,** 2000, Molecular imprinting: developments and applications in the analytical chemistry field, *Journal of Chromatography B*, 745, 3–13 pp.
- Andersson, L.I., Mandenius, C.F., and Mosbach, K.,** 1988, Studies on guest selective molecular recognition on an octadecyl silylated silicon surface using ellipsometry, *Tetrahedron Letters*, 29, 42, 5437-5440 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Andersson, L.I., Paprica, A. and Arvidsson, T.,** 1997, A highly selective solid phase extraction sorbent for pre-concentration of sameridine made by molecular imprinting, *Chromatographia*, 46, 57–62 pp.
- Arifin, D.Y., Lee, L.Y. and Wang, C.-H.,** 2006, Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems, *Advanced Drug Delivery Reviews* 58, 1274–1325 pp.
- Arshady, R. And Mosbach, M.,** 1981 Synthesis of substrate-selective polymers by host–guest polymerization, *Macromolecular Chemistry and Physics-Macromolecular Chemistry* 182, 687–692 pp.
- Assi, K.H., Tarsin, W. and Chrystyn, H.,** 2006, High performance liquid chromatography assay method for simultaneous quantitation of formoterol and budesonide in Symbicort Turbuhaler, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41; 325–328 pp.
- Bailey, M.M. and Berkland, C. J.,** 2009, Nanoparticle Formulations in Pulmonary Drug Delivery , *Medicinal Research Reviews*, 29, 1, 196-212 pp.
- Bajpai, A.K., Shukla, S., Bhanu, S. and Kankane, S.,** 2008, Responsive Polymers Controlled Drug Delivery, *Progress in Polymer Science*, 33:1088-1118 pp.
- Bangs, L.B.,** 1987, Uniform Latex Particles, Seragen Diagnostics Inc., Third Edition, Indianapolis.
- Barnes, P.J.,** 2008. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Immunology*, 8(3), 183–192 pp.
- Barnes, P.J., Burney, P.G.J., Silverman, E.K., Celli, B.R., Vestbo, J., Wedzicha, J.A. and Wouters, E.F.M.,** 2015, Chronic obstructive pulmonary disease. *Nature Reviews Disease Primers*, (December), 15076.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Beck-Broichsitter, M., Merkel, O.M. and Kissel, T.,** 2012, Controlled pulmonary drug and gene delivery using polymeric nano-carriers. *Journal of Controlled Release*, 161(2), 214–224 pp.
- Bennett, W.D. and Smaldone, G.C.,** 1987, Human ventilation in the peripheral air-space deposition of inhaled particles. *American Journal of Physiology* 62: 1603–1610 pp.
- Brannon, L. and Peppas, N.A.,** 1991, Equilibrium swelling behavior of pH-sensitive hydrogels, *Chemical Engineering. Science*, 46:715-722 pp.
- Cai, X., Li, J., Zhang, Z., Yang, F., Dong, R. and Chen, L.,** 2014, Novel Pb²⁺ Ion Imprinted Polymers Based on Ionic Interaction via Synergy of Dual Functional Monomers for Selective Solid-Phase Extraction of Pb²⁺ in Water Samples, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6, 305–313 pp.
- Chen, L., Xu, S. and Li, J.,** 2011, Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications, *Chemical Society Reviews*, 40, 2922–2942 pp.
- Chen, L., Wang, X., Lu, W., Wu, X. And Li, J.,** 2016, Molecular imprinting: perspectives and applications, *Chemical Society Reviews*, 45, 2137—2211 pp.
- Clark, A.R.,** 1995, Medical aerosol inhalers: past, present, and future, *Aerosol Science and Technology*, 22:4, 374-391 pp.
- Craparo, E.F., Ferraro, M., Pace, E., Bondi, M.L., Giammona, G. and Cavallaro, G.,** 2017, Polyaspartamide-based nanoparticles loaded with fluticasone propionate and the in vitro evaluation towards cigarette smoke effects, *Nanomaterials*, 7, 222 pp.
- Cunliffe, D., Kirby, A. and Alexander, C.,** 2005, Molecularly imprinted drug delivery systems, *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1836– 1853 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Dickert, F., Achatz, P. and Halikias, K.,** 2001, Double molecular imprinting – a new sensor concept for improving selectivity in the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in water, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 371, 11–15 pp.
- Dickey, F.H.,** 1949, Specific adsorbents, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 35, 227– 229 pp.
- Drugbank,** Salmeterol, <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00938> (Erişim tarihi: 16 Mart 2019)
- Dubin, M.M. and Radushkevich, L.V.,** 1947, Equation of the characteristic curve of activated charcoal. *Proceedings of the USSR Academy of Sciences*, 55, 331–333 pp.
- Erkurt, F.E. and Balcı B.,** 2015, Reaktif black 5 boyar maddesinin aktif karbon üzerine adsorpsiyonunun kinetik ve adsorpsiyon modelleri kullanılarak incelenmesi, *Çukurova Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 30(1), 257-269 pp.
- Feyzioğlu Demir, E., Öztürk Atay, N., Koruyucu, M., Kök, G., Salman, Y. and Akgöl, S.,** 2018, Mannose based polymeric nanoparticles for lectin separation, *Separation Science And Technology*, 53, 15, 2365–2375 pp.
- Fields, M.R.,** 1949, US Patent No. 2,470,296
- Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M. and Axelsson, A.,** 2011, the mechanism of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems—a review, *International Journal of Pharmaceutics*, 415:34–52 pp.
- Freundlich, H.M.F.,** 1906, Über die Adsorption in Lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 57, 385-470 pp.
- Fu, Y. and Kao, W.J.,** 2010, Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(4):429-444 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Garbuzenko, O.B., Mainelis, G., Taratula, O. And Minko, T.,** 2014. Inhalation treatment of lung cancer: the influence of composition, size and shape of nanocarriers on their lung accumulation and retention, *Cancer Biology & Medicine*, 11, pp.44–55.
- Garcia, G., Taille', C., Laveneziana, P., Bourdin, A., Chanez, P. and Humbert, M.,** 2013, Anti-interleukin-5 therapy in severe asthma, *Rare Diseases And Orphan Drugs*, 22: 251–257 pp.
- Garipcan, B., Bereli, N., Patır, S., Arica, Y. and Denizli, A.,** 2001, Synthesis of poly[(hydroxyethyl methacrylate)-co-(methacrylamidoalanine)] membranes and their utilization as an affinity sorbent for lysozyme adsorption, *Macromolecular Bioscience*, 1, 332–340 pp.
- Ganesan, S., Comstock, A.T. and Sajjan, U.S.,** 2013, Barrier function of airway tract epithelium. *Tissue Barriers*, 1(4), e24997 pp.
- Gina Science Committe.,** 2016, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. *Gina*, 1–147 pp.
- Grossman, J.,** 1994, The Evolution of inhaler technology, *Journal of Asthma*, 31(1),55-64 pp.
- Gupta, S.S. and Bhattacharyya, K.G.,** 2011, Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials: A review, *Advances in Colloid and Interface Science* 162, 39–58 pp.
- Guragain, S., Torad, N.L., Alghamdi, Y.G., Alshehri, A.A., Kim, J., Bastakoti B.P. and Yamauchi, Y.,** 2018, Synthesis of nanoporous calcium carbonate spheres using double hydrophilic block copolymer poly(acrylic acid-b-N-isopropylacrylamide), *Materials Letters* 230, 143–147 pp.
- Gürsoy, A.Z.,** 2002, Kontrollü Salım Sistemleri Kitabı, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği, İstanbul, 406 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Haruki, M., Konnai, Y., Shimada, A. and Takeuchi, H.,** 2007, Molecularly imprinted polymer - assisted refolding of lysozyme, *Biotechnology Progress*, 23, 1254–1257 pp.
- Hatami, M., Karimnia, E. and Farhadi, K.,** 2013, Determination of salmeterol in dried blood spot using an ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction coupled with HPLC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 85; 283–287.
- Hiratani, H., Fujiwara, A., Tamiya, Y., Mizutani, Y. and Alvarez-Lorenzo, C.,** 2005, Ocular release of timolol from molecularly imprinted soft contact lenses, *Biomaterials* 26, 1293–1298 pp.
- Holgate, S.T., Wenzel, S., Postma, D.S., Weiss, S.T., Renz, H. and Sly, P.D.,** 2015, Asthma. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(September), 1–22 pp.
- Ho, Y.S. and Mckay, G.,** 1998, The kinetics of sorption of basic dyes from aqueous solution by sphagnum moss peat, *The Canadian Journal Of Chemical Engineering*, 76, 822-827 pp.
- Inanan, T., Tüzmen, N., Akgöl, S. And Denizli, A.,** 2016, Selective cholesterol adsorption by molecular imprinted polymeric nanospheres and application to GIMS, *International Journal of Biological Macromolecules* 92, 451–460 pp.
- İlacabak,** Salmeterol/Flutikazon,
<http://www.ilacabak.com/etkengoster.php?Id=430>, (Erişim tarihi:22 Mart 2019)
- Kalepu, S. and Nekkanti, V.,** 2015, Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects, *Acta Pharmaceutica Sinica B*; 5(5):442–453 pp.
- Kayranli, B.,** 2011, Adsorption of textile dyes onto iron based waterworks sludge from aqueous solution; isotherm, kinetic and thermodynamic study, *Chemical Engineering Journal*, 173, 782–791 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Keleş B., Inanan, T., Tüzmen, N. and Denizli A.,** 2015, Cadmium removal performances of different dye ligands attached cryogel disks, *Croatica Chemica Acta*, 88 (2),139–149 pp.
- Kempe, S. and Mäder, K.,** 2012, In Situ Forming Implants —An Attractive Formulation Principle For Parenteral Depot Formulations, *Journal of Controlled Release*, 161: 668–679 pp.
- Korsmeyer, R.W. and Peppas, N.A.,** 1984, Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. III. Drug release from glassy poly(HEMA-co-NVP) copolymers, *Journal of Control Release*, 1:88-98 pp.
- Kourmatzis, A., Cheng, S. and Chan, H.K.,** 2018, Airway geometry, airway flow, and particle measurement methods: implications on pulmonary drug delivery, *Expert Opinion on Drug Delivery*, 15(3), 271–282 pp.
- Kriscio, D.R., and Peppas, N.A.,** 2009, Mimicking biological delivery through feedback-controlled drug release systems based on molecular imprinting. *Bioengineering, Food, And Natural Products*, 55,6 1311-1324 pp.
- Labiris, N.R. and Dolovich, M.B.,** 2003, Pulmonary drug delivery. Part II: The role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications, *British Journal of Clinical Pharmacology*, 56, 600–612 pp.
- Langmuir, I.,** 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica, and platinum, *Journal of the American Chemical Society* 40, 1361-1402 pp.
- Leach, C.L., Davidson, P.J. and Boudreau, R.J.,** 1998, Improved airway targeting with the CFC-free HFA–beclomethasone metered-dose inhaler compared with CFC–beclomethasone, *European Respiratory Journal*, 12: 1346-1353 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Learoyd, T.P., Burrows, J.L., French, E. and Seville, P.C.**, 2008, Chitosan-based spray-dried respirable powders for sustained delivery of terbutaline sulfate, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 68; 224–234 pp.
- Le Brun, P.P.H., de Boer, A.H., Heijerman, H.G.M. and Frijlink, H.W.**, 2000, A review of the technical aspects of drug nebulization, *Pharmacy World & Science*, 2(3), 75–81 pp.
- Liang, Z., Ni, R., Zhou, J., and Mao, S.**, 2015. Recent advances in controlled pulmonary drug delivery, *Drug Discovery Today*, 20(3), 380–389 pp.
- Liechty, W.B., Kryscio, D.R., Slaughter, B.V. and Peppas, N.A.**, 2010, Polymers for drug delivery systems, *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, 1:149–173 pp.
- Li, H., Dong, W.-f., Zhou, J.-y., Xu, X.-m. and Li, F.-q.**, 2013, Triggering effect of N-acetylglucosamine on retarded drug release from a lectin-anchored chitosan nanoparticles-in-microparticles system, *International Journal of Pharmaceutics* 449, 37–43 pp.
- Lin, C.-C. and Metters, A.T.**, 2006, Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58:1379-1408 pp.
- Loira-Pastoriz, a C., Todoroff, J. and Vanbever, R.**, 2014, Delivery strategies for sustained drug release in the lungs, *Advanced Drug Delivery Reviews* 75, 81–91 pp.
- Loos, J.**, 2005, The Art of SPM: Scanning probe microscopy in material science, *Advanced Materials*, 17, 1821-1833 pp.
- Lu, Y., Li, C., Liu, X. and Huang, W.**, 2002, Molecular recognition through the exact placement of functional groups on non-covalent molecularly imprinted polymers, *Journal of Chromatography A*, 950(1-2): 89-97 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Marasini, N., Haque, S. And Kaminskas, L.M.,** 2017, Polymer-drug conjugates as inhalable drug delivery systems: A review, *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 31, 18-29 pp.
- Marty, J.D. ve Mauzac, M.,** 2005. Molecular imprinting: state of the art and perspectives. *Advance Polymer Science*, 172, 1-35 pp.
- Marques, M.R.C., Loebenberg, R. and Almukainzi, M.,** 2011, Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing, *Dissolution Technologies*, 60,15-28pp.
- Matsui, J., Fujiwara, K. and Takeuchi, T.,** 2000, Atrazine-selective polymers prepared by molecular imprinting of trialkylmelamines as dummy template species of atrazine, *Analytical Chemistry*, 72, 1810–1813 pp.
- Mayers, A.G. and Whitcombe, M.J.,** 2005, Synthetic strategies for the generation of molecular imprinted organic polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57:1742-1778 pp.
- Miller, C.W.T., Krishnaswamy, N., Johnston, C. and Krishnaswamy, G.,** 2008, Severe asthma and the omalizumab option, *Clinical and Molecular Allergy*, 6:4 pp.
- Mohanta, D. and Ahmaruzzaman, Md.,** 2018, Bio-inspired adsorption of arsenite and fluoride from aqueous solutions using activated carbon@SnO₂ nanocomposites: Isotherms, kinetics, thermodynamics, cost estimation and regeneration studies, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6, 356–366 pp.
- Morrow, R.J., Woolfson, A.D., Donnelly, L., Curran, R., Andrews, G., Katinger, D. and Malcolm, R.K.,** 2011, Sustained release of proteins from a modified vaginal ring device, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 77:3–10 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Mosbach, K., and Haupt, K.** 1998, Some new developments and challenges in noncovalent molecular imprinting technology. *Journal of Molecular Recognition*, 11, 62–68 pp.
- Mosbach, K. and Ramström, O.**, 1996, The Emerging technique of molecular imprinting and its future impact on biotechnology, *Bio/Technology*, 14, 163 pp.
- National Heart, Lung, and Blood Institute** 2007, Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. <https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/asthgdln.pdf> (Erişim tarihi: 14 Mart 2019).
- Nelson, H.S., Busse, W.W., Kerwin, E., Church, N., Emmett, A., Rickard, K. and Knobil, K.**, 2000, Fluticasone propionate/salmeterol combination provides more effective asthma control than low-dose inhaled corticosteroid plus montelukast, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106, 6, 1088-1095 pp.
- Nostrum, C.F.**, 2005, Molecular imprinting: A new tool for drug innovation, *Drug Discovery Today: Technologies*, 2,1 119-124 pp.
- Nunes, C., Pereira, A.M. and Morais-Almeida, M.**, 2017, Asthma costs and social impact. *Asthma Research and Practice*, 3(1), 1.
- Oh, Y.J., Lee, J., Seo, J.Y., Rhim, T., Kim, S.-H., Yoon, H.J. and Lee, K.Y.**, 2011. Preparation of budesonide-loaded porous PLGA microparticles and their therapeutic efficacy in a murine asthma model. *Journal of Controlled Release*, 150(1), 56–62 pp.
- Pai, N. and Patil, S.S.**, 2013, Development and validation of RP-HPLC method for estimation of formoterol fumarate and budesonide in pressurised meter dose inhaler form, *Der Pharmacia Sinica*, 4(4):15-25 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Paranjpe, M., and Müller-Goymann, C.C.,** 2014, Nanoparticle-mediated pulmonary drug delivery: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(4), 5852–5873 pp.
- Patel, B., Gupta, V. and Ahsan, F.,** 2012, PEG–PLGA based large porous particles for pulmonary delivery of a highly soluble drug, low molecular weight heparin, *Journal of Controlled Release* 162: 310–320 pp.
- Patton, J.S.,** 1996, Mechanisms of macromolecule absorption by the lungs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 19(1), 3–36 pp.
- Patton, J.S. and Byron, P.R.,** 2007, Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6, 67–74 pp.
- Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W. and Ichikawa, H.,** 2000, Hydrogels in Pharmaceutical Formulations, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 50:27-46 pp.
- Pierstorff, E., Chen S., Chaparro, M.P., Cortez, J.M., Chen, Y.-J., Ryu, S.Y., Tsai, S.M., Baum, M.M., Yang, W.W., Kalinec, F., Smith T., Ludwig S. and Slaterry, W.H.,** 2018, A Polymer-based extended release system for stable, long-term intracochlear drug delivery, *Otology & Neurotology*, 39:1195–1202 pp.
- Polyakov, M.V.,** 1931, Adsorption properties and structure of silica gel, *Zhurnal Fizicheskoi Khimii* 2, 799–805 pp.
- Rachkov, A. and Minoura, N.,** 2000, Recognition of oxytocin and oxytocin-related peptides in aqueous media using a molecularly imprinted polymer synthesized by the epitope approach, *Journal of Chromatography A*, 889, 111–118 pp.
- Ramström, O. and Ansell, R.J.,** 1998. Molecular Imprinting Technology: Challenges and Prospects for the Future. *Chirality*, 10, 195-209 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Ramström, O., Andersson, L.I. and Mosbach, K.,** 1993, recognition sites incorporating both pyridinyl and carboxy functionalities prepared by molecular imprinting, *Journal of Organic Chemistry*, 58 (26), 7562–7564 pp.
- Roberge, R.J., Krenzelok, E.P. and Mrvos, R.,** 2000, transdermal drug delivery system exposure outcomes, *The Journal of Emergency Medicine*, 18: 147-151 pp.
- Roland, N.J., Bhalla, R.K. and Earis, J.,** 2004, The local side effects of inhaled corticosteroids: current understanding and review of the literature. *Chest*, 126:213-9 pp.
- Sağlık Bakanlığı,** 2006, RSHMB Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü. Türkiye Hastalık Yüğü Çalışması 2004. Ankara: Aydoğdu Ofset; Sağlık Bakanlığı Yayın No: 701.
- Samir, A., Salem, H. and Abdelkaway, M.,** 2012, Simultaneous determination of salmeterol xinafoate and fluticasone propionate in bulk powder and seritidediskus using high performance liquid chromatographic and spectrophotometric method, *Pharmaceutica Analytica Acta*, 03:08 pp.
- Sellergren, B. and Allender, C.J.,** 2005, Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* 57, 1733–1741 pp.
- Shoaib, M.H., Tazeen, J., Merchant, H.A. and Yousuf, R.I.,** 2006, Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19 (2), 119-124 pp.
- Siepmann, J. and Peppas, N.A.,** 2001, Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), *Advanced Drug Delivery Reviews* 48, 139–157 pp.
- Silva, L.F.C., Kasten, G., Maduro de Campos, C.E., Luiz Chinelatto, A. and Lemos-Senna E.,** 2013, Preparation and characterization of quercetin-loaded solid lipid microparticles for pulmonary delivery, *Powder Technology*, 239, 183–192 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Smola, M., Vandamme, T. and Sokolowski, A.,** 2008, Nanocarriers as pulmonary drug delivery systems to treat and to diagnose respiratory and non respiratory diseases, *International Journal of Nanomedicine*, 3(1), 1–19 pp.
- Sreenivasan, K. and Sivakumar, R.,** 1999, Imparting recognition sites in poly(HEMA) for two compounds through molecular imprinting, *Journal of Applied Polymer Science*, 71, 1823–1826 pp.
- Stuart, W.B.,** 1939, US Patent No. 2,214,032.
- Toxnet,** Toxicology Data Network, U.S.National Library of Medicine, Flutikazon, <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~sSaJel:2> (Erişim tarihi: 16 Mart 2019).
- Toxnet,** Toxicology Data Network, U.S.National Library of Medicine, Salmeterol, <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/r?dbs+hsdb:@term+@DOCNO+7315> (Erişim tarihi: 16 Mart 2019).
- Tuli, R.A., Dargaville, T.R., George, G.A. and Islam, N.,** 2012, Polycaprolactone microspheres as carriers for dry powder inhalers: effect of surface coating on aerosolization of salbutamol sulfate, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101:733–745 pp.
- Türk Toraks Derneği,** 2016, Astım tanı ve tedavi rehberi, *Bilimsel Tıp Yayınevi*, 1-108 pp.
- Tüzmen, N., Kalburcu, T., Aktaş Uygun, D., Akgöl, S. and Denizli, A.,** 2015, A novel affinity disks for bovine serum albumin purification, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 175:454-468 pp.
- Uhrich, K.E., Cannizzaro, S.M., Langer, R.S. and Shakesheff, K.M.,** 1999, Polymeric systems for controlled drug release, *Chemical Reviews*, 99:3181–3198 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Ungaro, F., d' Angelo, I., Miro, A., La Rotonda, M.I. and Quaglia, F.,** 2012. Engineered PLGA nano- and micro-carriers for pulmonary delivery: challenges and promises, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(9), 1217–1235 pp.
- Uygun, M., Feyzioğlu, E., Özçalışkan, E., Caka, M., Ergen, A., Akgöl, S. and Denizli, A.,** 2013, New generation ion-imprinted nanocarrier for removal of Cr(VI) from wastewater, *Journal of Nanoparticle Research*, 15:1833
- Van Rijt, S.H., Bein, T. and Meiners, S.,** 2014, Medical nanoparticles for next generation drug delivery to the lungs, *European Respiratory Journal*, 44(3), 765–774 pp.
- Venkatesh, A., Chopra, N. and Krupadam, R.J.,** 2014, Removal of acutely hazardous pharmaceuticals from water using multi-template imprinted polymer adsorbent, *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 6603–6611 pp.
- Veronese, F.M. and Pasut, G.,** 2005, PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today*, 10:21, 1451-1458 pp.
- Weber, T.W. and Chakravorti, R.K.,** 1974, Pore and solid diffusion models for fixed-bed adsorbers, *AIChE Journal*, 20:2, 228-238 pp
- Whitcombe, M.J., Kirsch, N. and Nicholls, I.A.,** 2013, Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years 2004–2011, *Journal of Molecular Recognition*, 27: 297–401 pp.
- Wu, C.-H.,** 2007, Adsorption of reactive dye onto carbon nanotubes: Equilibrium, kinetics and thermodynamics, *Journal of Hazardous Materials* 144, 93–100 pp.
- Wulff, G. and Poll, H.G.,** 1987, Enzyme-analog built polymers, 23. Influence of the structure of the binding sites on the selectivity for racemic resolution, *Makromolecular Chemistry and Physics*, 188:741-748 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

- Wulff, G. and Sarhan, A.,** 1972, Über die anwendung von enzymanalog gebauten Polymeren zur Racemattrennung, *Angewandte Chemie* 84, 364 pp.
- Yan, M. and Ramstrom, O.,** 2005, Molecularly imprinted materials: Science and technology, *Marcel Dekker, New York*, 734 pp.
- Yang, W., Peters, J. I. and Williams, R.O.,** 2008, Inhaled nanoparticles—A current review. *International Journal of Pharmaceutics*, 356 (1–2), 239–247 pp.
- Zhang, H., and Xu, J.,** 2016, Enhanced oral bioavailability of salmeterol by loaded PLGA microspheres: preparation, in vitro, and in vivo evaluation, *Drug Delivery*, 23(1): 248–253 pp.
- Zhang, J., Wu, L., Chan, H.-K. and Watanabe, W.,** 2011, Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(6), 441–455 pp.

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden beri her zaman yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgisini, sevgisini paylaşmaktan çekinmeyen, tavsiyeleri ile bana yol gösteren çok değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. Sinan AKGÖL'e,

Lisans eğitiminden buyana yardımını eksik etmeyen, çalışmalarında zora girdiğimde imdadıma yetişen, her daim yanımda olan R.Hilal ŞENAY'a, F.Zeynep KALKAN'a, salım çalışmalarında laboratuvarda olamadığımda yardımlarını esirgemeyen Erbu GÜNSOY'a, Damla ORHAN'a Simge ER'e ve her zaman motivasyonları ile yanımda hissettiğim tüm Biorege ailesine,

Her zaman yanımda olan, desteğini, sevgisini hiç bir zaman esirgemeyen, tüm sıkıntılarında yanımda olan eşim Ali DEMİR'e,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, her koşulda özveriyle, güvenle destekleyip, bu duruma gelmemi sağlayan sevgili annem Sermin FEYZİOĞLU'na, babam Ahmet FEYZİOĞLU'na ve kardeşim Emre FEYZİOĞLU'na ve 29 haftalık gebeliğim boyunca beni üzmeyen oğluma,

Doktora çalışmam boyunca "TÜBİTAK -2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı, 2211-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı" desteğini bana sağlayan Tübitak-Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı' na

Sonsuz Teşekkürler.

17.06.2019

Esra FEYZİOĞLU DEMİR

ÖZGEÇMİŞ

Ad : Esra

Soyad : FEYZİOĞLU DEMİR

Doğum Yeri : Ağrı

Doğum Tarihi : 17.10.1989

Adres : Bahçelievler Mah. Yaşar Aksoy Sok. No:97, Kat:4 D:12
Karşıyaka-İZMİR

e-posta adresi : esraa.feyzioglu@gmail.com

Cep Telefonu : 05382747487

EĞİTİM BİLGİLERİ

Lise: Tuzla Behiye Dr. Nevhiz Işıl Anadolu Lisesi (2003-2007)

Lisans: Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü (2007-2011)

Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji
Anabilim Dalı (2011- 2013)

GÖREVLERİ

Öğretim Görevlisi- İzmir Ekonomi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu- Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı- 01.04.2015-devam
ediyor.

ESERLER**SCI Tarafından Taranan Dergilerde Yayımlanan Makaleler**

- 1) **Esra Feyzioğlu Demir**, Emir Özçalışkan, Hayriye Karakaş, Murat Uygun, Deniz Aktaş Uygun, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Synthesis and characterization of albumin imprinted polymeric hydrogel membranes for

- proteomic studies (2018), Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, doi.org/10.1080/09205063.2018.1534423
- 2) **Esra Feyzioğlu Demir**, Nevra Öztürk Atay, Meryem Koruyucu, Gökhan Kök, Yeşim Salman, Sinan Akgöl, Mannose based polymeric nanoparticles for lectin separation (2018), Separation Science and Technology, doi.org/10.1080/01496395.2018.1452943
 - 3) **Esra Feyzioğlu Demir**, Cansu İlke Kuru, Murat Uygun, Deniz Aktaş Uygun, Sinan Akgöl (2018), Antibody separation using lectin modified poly(HEMA-EDMA) hydrogel membranes, Journal of Biomaterials science, Polymer edition, 4, 29. DOI: 10.1080/09205063.2017.1417197
 - 4) Safiye Meriç Açıklı, **Esra Feyzioğlu**, Cansu İlke Kuru, Evren Türker, Ahmet Aslan, Deniz Aktaş Uygun, Sinan Akgöl (2016), Dye Incorporated Nanopolymers and their Application to Leather Wastewater: A Study of Removal of Cr(III) Ions, Journal of Society of Leather Technologists and Chemists, 4,100.
 - 5) Ceren Turkcan Kayhan, Raziye Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, Fulden Zeynep Ural, Ozlem Goksel, Tuncay Goksel, Suleyman Gulcema, Munevver Erdinc, Sinan Akgöl (2015), Development of a novel nano-sized carrier system for aeroseol drug delivery (EGE University translational pulmonology research group), European Respiratory Journal, DOI: 10.1183/13993003.congress-2015.PA2134
 - 6) Raziye Hilal Şenay, Safiye Meriç Gökalp, Evren Türker, **Esra Feyzioğlu**, Ahmet Aslan, Sinan Akgöl, (2015), A new morphological approach for removing acid dye from leather waste water: preparation and characterization of metal-chelated spherical particulated membranes (SPMS), Journal of Enviromental Management, 151, 295-302, DOI:10.1016/j.jenvman.2014.12.046
 - 7) Cem Esen, Raziye Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, Sinan Akgöl (2014), p(HEMA–MAGA) nanospheres for adsorption of Cd²⁺ ions from aqueous solutions, Journal of Nanoparticle Research, 16:2255. DOI: 10.1007/s11051-014-2255-z
 - 8) Murat Uygun, **Esra Feyzioğlu**, Emir Özçalışkan, Müşerref Caka, Aygen Ergen, Sinan Akgöl, Adil Denizli, (2013), New generation ion-imprinted

nano-carrier for removal of Cr(VI) from wastewater, Journal of Nanoparticle Research, 15:1833. DOI: 10.1007/s11051-013-1833-9.

Patentler

Patent Başlığı: Kimyasal Kalıntıların Giderimi İçin Nanoteknolojik Ürünler

Başvuru Sahipleri: CanDNA Arge Danışmanlık, Eğitim ve Tic.Ltd. Şti.

Buluş sahipleri: Necati Altındış, Esra Feyzioğlu Demir, Raziye Hilal Şenay, Fulden Zeynep Kalkan, Sinan Akgöl

Patent Başvuru Numarası: 2019-GE-181519

Dosya No: 2019/06091

Başvuru Tarihi: 25.04.2019, TPE kapsamında inceleme aşamasında

Bildiriler

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. Onur Üzüm, Ceren Türkcan Kayhan, **Esra Feyzioğlu Demir**, Emir Özçalışkan, Sinan Akgöl, Özge Andiç-Çakır, Self-Healing of Cementitious Composites with Nano-Polymeric Agents, 13th International Congress on Advances in Civil Engineering, 12-14 September 2018, Izmir/TURKEY (Sözlü Bildiri)
2. **Esra Feyzioğlu**, Cansu İlke Kuru, Sinan Akgöl, Preparation of Novel Lectin Affinity poly(2-Hydroxyethyl Methacrylate- Ethylene Dimethacrylate) Hydrogel Membrane Systems for Investigation of Antibody Recognition, The 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity (SEAB2017), 05-08 July 2017 Minsk/ Belarus, (**Poster Bildiri**), pp- 607.
3. Cem Esen, Raziye Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, Sinan Akgöl, Poly(hydroxyethyl methacrylate-co-methacryloylglutamic acid) Nanospheres for Adsorption of Cd²⁺ Ions From Aqueous Solutions, 10th Aegean Analytical Chemistry Days 29 September – 2 October, 2016, Çanakkale, TURKEY (Sözlü Bildiri)

4. Ceren Türkcan Kayhan, R. Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, F. Zeynep Ural, Özlem Göksel, Tuncay Göksel, Süleyman Gülcemal, Münevver Erdiñç, Sinan Akgöl, The Development of a Novel Nano-Sized Carrier System for Aerosol Drug Delivery, European Respiratory Society International Congress 2015, 26-30 September Amsterdam/Netherlands (**Poster Bildiri**)
5. Şeyma Taşdemir, Ece Bayır, R. Hilal Şenay, F. Zeynep Ural, **Esra Feyzioğlu**, Sinan Akgöl, Murat Elibol, Enzymatic transesterifications of soybean oil and microalgal oil using immobilized lipase on Fe₃O₄ magnetic nanospheres as biocatalyst, VII. Bioengineering Congress, 19-21 November 2015 Izmir/Turkey (**Poster Bildiri**).
6. R. Hilal Şenay, F. Zeynep Ural, **Esra Feyzioğlu**, Ece Bayır, Şeyma Taşdemir, Murat Elibol, Sinan Akgöl, Lipase Immobilization Onto Novel Magnetic Nanoparticles, 9th National Affinity Techniques Symposium with International Contributions, 6-8 September 2015, Köyceğiz, Muğla/Turkey (**Poster Bildiri**).
7. R.Hilal Şenay, M.Yaşar Şenses, **Esra Feyzioğlu**, Gülçin İtırılı Aslan, Sinan Akgöl, Polymer Based Nano-Carriers For Controlled Release of Ibuprofen, 2nd International BAU Drug Design Congress, April 17-19 2014, Istanbul/Turkey pp. 95 (**Poster Bildiri**).
8. Evren Türker, Safiye Meriç Gökalp, **Esra Feyzioğlu**, Cansu İlke Kuru, Ahmet Aslan, Sinan Akgöl, Dye Ligand Nanopolymers for Removal of Cr(III) From Leather Waste Water, XXXII. Congress of IULTCS, May 29th–31th 2013, Istanbul/Turkey, pp. 175 (**Poster Bildiri**).

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler:

1. Ebru Gürsoy, **Esra Feyzioğlu Demir**, Fulden Ulucan, Sinan Akgöl, Esansiyel Yağların Kullanımına Yönelik Polimerik Hidrojel Membranların Geliştirilmesi, 12. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 5-7 Eylül 2018 Foça/İzmir pp 79 (**Poster Bildirimi**).
2. **Esra Feyzioğlu Demir**, Ömer Barış Üzüm, Sinan Akgöl, Afinite Sistemleri Olarak Polimerik Hidrojel Membranların Geliştirilmesi ve Şişme

- Davranışlarının Belirlenmesi, 11. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 15-17 Haziran 2017 Kuşadası/Aydın (**Poster Bildirimi**).
3. Ecem Ayhan, Didem Aktaş, **Esra Feyzioğlu**, Ceren Türkcan Kayhan, Sinan Akgöl, Fenilketonüri Hastalığının Erken Teşhisine Yönelik MIP Modifiye Biyosensör Sistemi Geliştirilmesi, 10. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 26-28 Mayıs 2016 Ayvalık / Balıkesir, pp 33 (**Poster Bildirimi**)
 4. Ceren Türkcan Kayhan, R. Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, F. Zeynep Ural, Süleyman Gülcemal, Tuncay Göksel, Özlem Göksel, Sinan Akgöl, Astım Hastalığı Tedavisinde İnhalerlerde Kullanılabilecek Potansiyel Bir Malzeme: Triptofan Aşılı-p(HEMA) Nanopartiküllerin Sentezi ve Formoterol Fumarat Salım Kinetiğinin Belirlenmesi, 15. Kromatografi Kongresi, 8-10 Nisan 2015 Uşak pp. 140 (**Poster Bildirimi**)
 5. Ceren Türkcan Kayhan, R. Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, F. Zeynep Ural, Özlem Göksel, Tuncay Göksel, Süleyman Gülcemal, Münevver Erdiç, Sinan Akgöl, Aerosol İlaç Formülasyonu İçin Nano-Boyutlu Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi, Türk Toraks Derneği 18. Yıllık Kongresi, 1- 5 Nisan 2015 Antalya (**Poster Bildirimi**)
 6. Hayriye Karakaş, **Esra Feyzioğlu**, Emir Özçalışkan, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Proteomik Çalışmalarda Moleküler Baskılanmış Membranların Kullanılması, 8. Afinite Kongresi 4-5 Eylül 2014 Konya, pp.92 (**Poster Bildiri**).
 7. **Esra Feyzioğlu**, Nevra Öztürk Atay, Meryem Koruyucu, Gökhan Kök, Yeşim Salman Sinan Akgöl, Mannoz Temelli Nanopartiküllerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Con A Saflaştırılmasında Kullanımlarının İncelenmesi, 8. Afinite Kongresi 4-5 Eylül 2014 Konya, pp.69 (**Poster Bildiri**).
 8. **Esra Feyzioğlu**, C. İlke Kuru, R. Hilal Şenay, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Antikor Tanınmasına Yönelik Afinite-Membran Sistemi Temelli Biyoteknolojik Bir Yöntem Geliştirilmesi, 14. Kromatografi Kongresi, 12-15 Mayıs 2014, Çeşme-İzmir/Türkiye (**Poster Bildiri**)
 9. **Esra Feyzioğlu**, Sinan Akgöl, Boya Ligand Afinite Membranlar İle Cr(III) Tayini, 1. Ulusal Uygulamalı Lisansüstü Kromatografi Yaz Okulu, (Teknik Kurul Üyesi) 24-27 Eylül 2013 Çanakkale/Türkiye, pp. 209 (**Sözlü Bildiri**).

10. Safiye Meriç Açıkel, Raziye Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, Ahmet Aslan, Mustafa Saçmacı, Şerife Saçmacı, Şenol Kartal, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Afinite Sistemleri Olarak p(HEMA-MIM) Hidrojel Membranların Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu, 7. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 13-15 Eylül 2013, Çeşme-İzmir/Türkiye, pp. 72 (**Poster Bildiri**).
11. Raziye Hilal Şenay, **Esra Feyzioğlu**, Burcu Hoca, Mustafa Saçmacı, Şerife Saçmacı, Şenol Kartal, Sinan Akgöl, Adil Denizli, IgG Saflaştırmasına Yönelik Yeni Bir Metal-Şelat Afinite Sistemi Olarak Cu(II) Bağlı p(HEMA-MIM) Manyetik Nanoküreler, 7. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 13-15 Eylül 2013, Çeşme-İzmir/ Türkiye, pp. 69 (**Poster Bildiri**).
12. Can Çetin, Tülden Kalburcu, **Esra Feyzioğlu**, Nalan Tüzmen, Sinan Akgöl, Melatonin Saflaştırmasına Yönelik L-Triptofan Graft Edilmiş p(HEMA) Membranların Hazırlanması ve Karakterizasyonu, 7. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 13-15 Eylül 2013, Çeşme-İzmir/Türkiye, pp. 60 (**Poster Bildiri**).
13. **Esra Feyzioğlu**, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Hormon Salımı için Polimerik Membran Sistemleri, 7. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, (Organizasyon Komitesi), 13-15 Eylül 2013, Çeşme-İzmir/Türkiye, pp. 23 (**Sözlü Bildiri**).
14. **Esra Feyzioğlu**, Cansu İlke Kuru, Yaşar Mehmet Şenses, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Nanopolimer Temelli Yeni Nesil Afinite Hibrit Materyalleri ile Fumaraz İmmobilizasyonu. - Kromatografi 2012 Kongresi, 6-9 Haziran 2012, Tokat/ Türkiye, pp.41 (**Poster Bildiri**).
15. **Esra Feyzioğlu**, Aygen Ergen, Müşerref Caka, Emir Özçalışkan, Sinan Akgöl, Adil Denizli, Moleküler Baskılanmış Nanopolimerler ile Cr(VI) Giderimi. - Kromatografi 2012 Kongresi, 6-9 Haziran 2012, Tokat/Türkiye pp. 56 (**Poster Bildiri**).

Tamamlanmış/ Devam Eden Projeler:

- Düşlerle Bilim, **118B279** kodlu – 4004 Doğa Eğitimi ve Bilim Okulları TÜBİTAK (**Eğitmen**) (18.05.2018 -01.12.2018) (Bütçe-50.111,37 TL)
- Göğüs Hastalıklarının Tedavisinde Nanobiyoteknolojik Bir Yaklaşım: Polimerik Nano-Malzemelerin İnhaler Yolla Kullanımının Araştırılması, Aliye Üstel Vakfı (2015-2018) (Bütçe 8.500 TL) (**Araştırmacı**)

- Göğüs Hastalıklarının Tedavisinde Nanobiyoteknolojik Bir Yaklaşım: Polimerik Nano-Malzemelerin İnhaler Yolla Kullanımının Araştırılması, 2211-C Yurt İçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı-TÜBİTAK (2015-2018)
- 12 FEN 030 Hormon Salımı için Polimerik Membran Sistemleri, Ege Üniversitesi BAP Projesi (2012-2014) (Bütçe 7.500 TL) (**Araştırmacı**)
- Yeni Nesil Moleküler Baskılanmış Nano-Taşıyıcı Sentezi, Karakterizasyonu ve in vitro Fe^{3+} Gideriminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması; 2209 Üniversite Öğrencilerini Yurt içi/Yurt Dışı Araştırma Projelerini Destekleme Programı, TÜBİTAK-(2010-211) (**Yürütücü**) (Bütçe 2.000 TL)

Kazanılan Ödüller ve Burslar:

- Türk Toraks Derneği 18. Yıllık Kongresi, 1- 5 Nisan 2015 Antalya, Deneysel Araştırmalar Çalışma Grubu Poster Ödülü.
Aerosol İlaç Formülasyonu İçin Nano-Boyutlu Taşıyıcı Sistemlerin Geliştirilmesi, Ceren Türkcan Kayhan, R. Hilal Şenay, Esra Feyzioğlu, F. Zeynep Ural, Özlem Göksel, Tuncay Göksel, Süleyman Gülcemal, Münevver Erdiñ, Sinan Akgöl
- 8. Afinite Teknikleri Kongresi 4-5 Eylül 2014 Konya, Poster Ödülü Birinciliği.
Proteomik Çalışmalarda Moleküler Baskılanmış Membranların Kullanılması, Hayriye Karakaş, Esra Feyzioğlu, Emir Özçalışkan, Sinan Akgöl, Adil Denizli
- 1.Ege Ar-ge ve Teknoloji Günleri, Mansiyon Ödülü, Aralık 2010, İzmir/Türkiye
Moleküler Baskılanmış Polimer İle İnsan Serumundan Fe^{3+} Giderimi
- TÜBİTAK-Öncelikli Alanlara Yönelik (2211-C) Yurtiçi Burs Programı-Doktora Bursu (2015-2018)
- Kredi Yurtlar Kurumu- Doktora Bursu (2013-2015)
- Kredi Yurtlar Kurumu- Yüksek Lisans Bursu (211-2013)

Staj ve Deneyimler

- Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı -Yaz Stajı (14 Haziran-16 Temmuz 2010)

Hibridoma Birimini. PCR, Elektroforez, Westen Blot ELİSA Testi, Monoklonal Antikor üretim aşamaları ve Fare Diseksiyonun yapılması

- İzmir İl Sağlık Müdürlüğü Karşıyaka Halk Sağlığı Laboratuvarı-Yaz Stajı (13-31 Temmuz 2009) -Klinik mikrobiyoloji ve Biyokimya Laboratuvarlarında

Klinik mikrobiyoloji ve Biyokimya Laboratuvarlarında

- Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı-Yaz Stajı (23 Haziran-25 Temmuz 2008)

Histokimya Laboratuvarı, Makroskopi Laboratuvarı. Döküm, Kesit alma ve Elde Takip işlemlerinin yapılması

Alınan Sertifikalar:

- Pedagojik Formasyon Sertifikası-18.06.2012, Ege Üniversitesi Eğitim Fakültesi.

Ulusal Düzeyde Bilimsel Toplantı Düzenleme:

- 24-27 Eylül 2013 1.Ulusal Uygulamalı Lisansüstü Kromatografi Yaz Okulu, Çanakkale (Teknik Kurul Üyesi).
- 13-15 Eylül 2013 7. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, Çeşme-İzmir (Organizasyon Komitesi Üyesi)
- 30 Nisan 2011 Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu, Geleneksel 3.Kök Hücre Sempozyumu-İzmir (Organizasyon Komitesi Üyesi).
- 5 Mart 2010 Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu –Biyokimyagerler Derneği; Biyogirişimcilik Günü Sempozyumu-İzmir (Organizasyon Komitesi Üyesi)
- 16 Mart 2009 Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu, Kök Hücre Sempozyumu-İzmir (Organizasyon Komitesi Üyesi)

Aktiviteler & Üyelikler

- Biyokimyagerler Derneği Üyeliđi, 2009- devam ediyor.
- Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu Biyokimya Araştırma Grubu Başkanlığı, 2010-2011
- Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu Yönetim Kurulu Üyeliđi,2009-2011
- Biyokimyagerler Derneği Yönetim Kurulu Üyeliđi, 2009-2010-Saymanlık
- Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Topluluğu Üyeliđi, 2007-2009.



EKLER

Tezde kullanılan Şekil ve çizelgelerin makalelerden alınan izin yazıları aşağıda verilmektedir.



This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4558320221755
License date	Mar 29, 2019
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Reviews Drug Discovery
Licensed Content Title	Inhaling medicines: delivering drugs to the body through the lungs
Licensed Content Author	John S. Patton, Peter R. Byron
Licensed Content Date	Jan 1, 2007
Licensed Content Volume	6
Licensed Content Issue	1
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
High-res required	no
Will you be translating?	yes, without original language
Number of languages	1
Circulation/distribution	<501
Author of this Springer Nature content	no
Title	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Institution name	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected presentation date	May 2019
Portions	Figure 1, Figure 2
Specific Languages	Turkish
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

Springer Nature Terms and Conditions for RightsLink Permissions



Journal

Tissue Barriers >

Volume 1, 2013 - Issue 4



1,442 77

Views

CrossRef citations to date

0

Altmetric

Review

Barrier function of airway tract epithelium

Shyamala Ganesan, Adam T Comstock & Uma S Sajjan 

Article: e24997 | Received 02 Apr 2013, Accepted 09 May 2013, Published online: 30 May 2013

 Download citation  <https://doi.org/10.4161/tisb.24997> Full Article Figures & data References Citations Metrics Licensing PDF

Copyright © 2013 Landes Bioscience

This is an open-access article licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 3.0 Unported License. The article may be redistributed, reproduced, and reused for non-commercial purposes, provided the original source is properly cited.



People also read

Article

**CELLULAR AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF
BASAL CELLS IN AIRWAY EPITHELIUM** ><https://www.tandfonline.com/action/showCopyRight?scroll=top&doi=10.4161%2Ftisb.24997>

SPRINGER NATURE LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 29, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4558311289348
License date	Mar 29, 2019
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Reviews Disease Primers
Licensed Content Title	Chronic obstructive pulmonary disease
Licensed Content Author	Peter J. Barnes, Peter G. J. Burney, Edwin K. Silverman, Bartolome R. Celli, Jørgen Vestbo et al.
Licensed Content Date	Dec 3, 2015
Licensed Content Volume	1
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
High-res required	no
Will you be translating?	yes, without original language
Number of languages	1
Circulation/distribution	<501
Author of this Springer Nature content	no
Title	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Institution name	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected presentation date	May 2019
Portions	Figure 1
Specific Languages	Turkish
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege University Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

Springer Nature Terms and Conditions for RightsLink Permissions

Springer Nature Customer Service Centre GmbH (the Licensor) hereby grants you a non-exclusive, world-wide licence to reproduce the material and for the purpose and

SPRINGER NATURE LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 29, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4558320464244
License date	Mar 29, 2019
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Nature Reviews Disease Primers
Licensed Content Title	Asthma
Licensed Content Author	Stephen T. Holgate, Sally Wenzel, Dirkje S. Postma, Scott T. Weiss, Harald Renz et al.
Licensed Content Date	Sep 10, 2015
Licensed Content Volume	1
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
High-res required	no
Will you be translating?	yes, without original language
Number of languages	1
Circulation/distribution	<501
Author of this Springer Nature content	no
Title	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Institution name	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected presentation date	May 2019
Portions	Figure 6
Specific Languages	Turkish
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

Springer Nature Terms and Conditions for RightsLink Permissions
Springer Nature Customer Service Centre GmbH (the Licensor) hereby grants you a non-exclusive, world-wide licence to reproduce the material and for the purpose and



RightsLink®

[Home](#)[Account
Info](#)[Help](#)Aerosol Science
and Technology**Title:** Medical Aerosol Inhalers: Past,
Present, and Future**Author:** A. R. Clark**Publication:** Aerosol Science & Technology**Publisher:** Taylor & Francis**Date:** Jan 1, 1995

Rights managed by Taylor & Francis

Logged in as:
Esra Feyzioğlu Demir
Account #:
3001428473[LOGOUT](#)**Thesis/Dissertation Reuse Request**

Taylor & Francis is pleased to offer reuses of its content for a thesis or dissertation free of charge contingent on resubmission of permission request if work is published.

[BACK](#)[CLOSE WINDOW](#)

Copyright © 2019 Copyright Clearance Center, Inc. All Rights Reserved. [Privacy statement](#). [Terms and Conditions](#).
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com



JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 30, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	4558910948029
License date	Mar 30, 2019
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	British Journal of Clinical Pharmacology
Licensed Content Title	Pulmonary drug delivery. Part II: The role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications
Licensed Content Author	N. R. Labiris, M. B. Dolovich
Licensed Content Date	Aug 20, 2003
Licensed Content Volume	56
Licensed Content Issue	6
Licensed Content Pages	13
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	1
Original Wiley figure/table number(s)	Table 1
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Languages	Turkish
Title of your thesis / dissertation	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Expected completion date	May 2019
Expected size (number of pages)	1
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with

**ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Mar 30, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4558890115227
License date	Mar 30, 2019
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Progress in Polymer Science
Licensed Content Title	Responsive polymers in controlled drug delivery
Licensed Content Author	A.K. Bajpai,Sandeep K. Shukla,Smitha Bhanu,Sanjana Kankane
Licensed Content Date	Nov 1, 2008
Licensed Content Volume	33
Licensed Content Issue	11
Licensed Content Pages	31
Start Page	1088
End Page	1118
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Intended publisher of new work	other
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Languages	Turkish
Original figure numbers	Figure 10
Title of your thesis/dissertation	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Publisher of new work	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected completion date	May 2019
Estimated size (number of pages)	1
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12

**ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Mar 30, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4558890524986
License date	Mar 30, 2019
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Advanced Drug Delivery Reviews
Licensed Content Title	Delivery strategies for sustained drug release in the lungs
Licensed Content Author	Cristina Loira-Pastoriza,Julie Todoroff,Rita Vanbever
Licensed Content Date	Aug 30, 2014
Licensed Content Volume	75
Licensed Content Issue	n/a
Licensed Content Pages	11
Start Page	81
End Page	91
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Intended publisher of new work	other
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	1
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Languages	Turkish
Original figure numbers	Figure 3
Title of your thesis/dissertation	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDİCİNE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Publisher of new work	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected completion date	May 2019
Estimated size (number of pages)	1
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12

**JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Mar 30, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	4558900318009
License date	Mar 30, 2019
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Journal of Molecular Recognition
Licensed Content Title	Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003
Licensed Content Author	Cameron Alexander, Håkan S. Andersson, Lars I. Andersson, et al
Licensed Content Date	Jan 4, 2006
Licensed Content Volume	19
Licensed Content Issue	2
Licensed Content Pages	75
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	University/Academic
Format	Print and electronic
Portion	Figure/table
Number of figures/tables	1
Original Wiley figure/table number(s)	Figure 2
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Languages	Turkish
Title of your thesis / dissertation	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Expected completion date	May 2019
Expected size (number of pages)	1
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work

**ELSEVIER LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Mar 30, 2019

This Agreement between Mrs. Esra Demir ("You") and Elsevier ("Elsevier") consists of your license details and the terms and conditions provided by Elsevier and Copyright Clearance Center.

License Number	4558900680484
License date	Mar 30, 2019
Licensed Content Publisher	Elsevier
Licensed Content Publication	Advanced Drug Delivery Reviews
Licensed Content Title	Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery
Licensed Content Author	Börje Sellergren,Chris J. Allender
Licensed Content Date	Dec 6, 2005
Licensed Content Volume	57
Licensed Content Issue	12
Licensed Content Pages	9
Start Page	1733
End Page	1741
Type of Use	reuse in a thesis/dissertation
Intended publisher of new work	other
Portion	figures/tables/illustrations
Number of figures/tables/illustrations	2
Format	both print and electronic
Are you the author of this Elsevier article?	No
Will you be translating?	Yes, without English rights
Number of languages	1
Languages	Turkish
Original figure numbers	Figure 3, Figure 5
Title of your thesis/dissertation	NANOBIOTECHNOLOGICAL APPROACH IN THE TREATMENT OF PULMONARY MEDICINE: INVESTIGATION OF THE USING POLYMERIC NANO-MATERIALS BY INHALER
Publisher of new work	Ege University Graduate School of Natural and Applied Science, Biotechnology Department
Expected completion date	May 2019
Estimated size (number of pages)	1
Requestor Location	Mrs. Esra Demir Ege Univeristy Faculty of Science Biochemistry Department Izmir, 35100 Turkey Attn: Mrs. Esra Demir
Publisher Tax ID	GB 494 6272 12